

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 10/07/2027

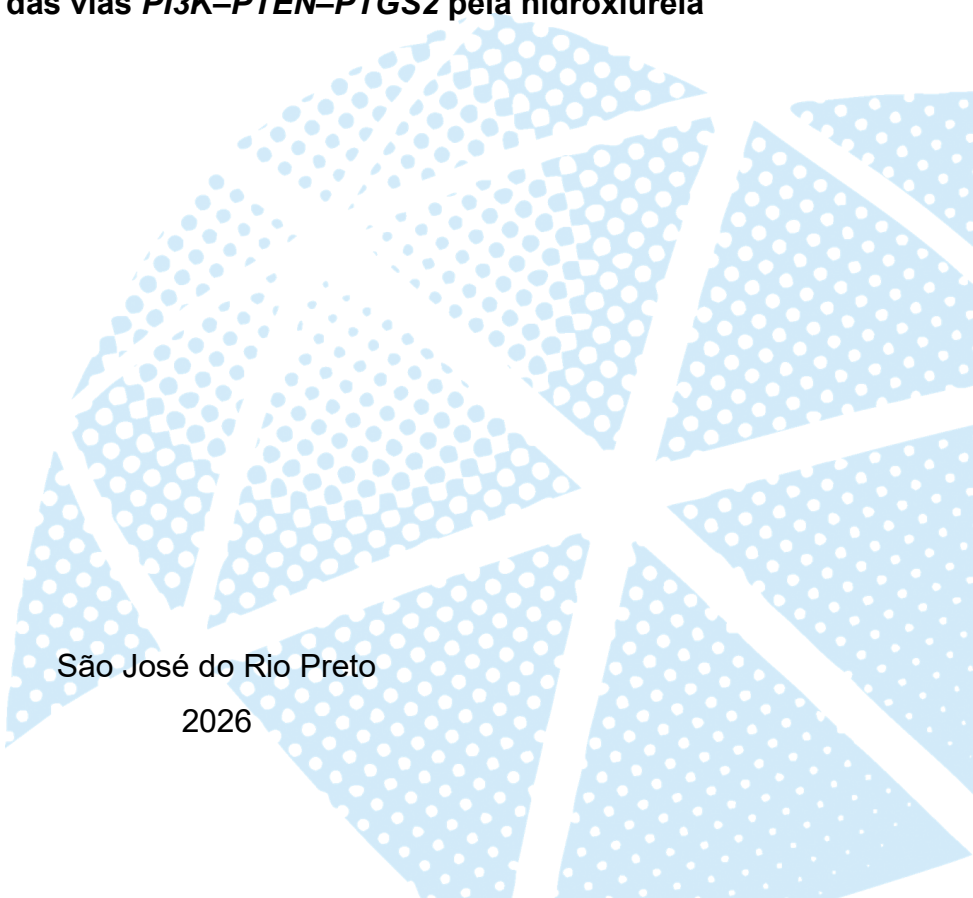
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Ibilce - Campus de São
José do Rio Preto

Lucas Ramos Pereira

**Perfil inflamatório molecular e clínico em doença falciforme: modulação da
expressão gênica das vias *PI3K–PTEN–PTGS2* pela hidroxíureia**

São José do Rio Preto

2026



Lucas Ramos Pereira

Perfil inflamatório molecular e clínico em doença falciforme: modulação da expressão gênica das vias *PI3K–PTEN–PTGS2* pela hidroxiureia

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Ibilce/UNESP, São José do Rio Preto, para obtenção do título de doutor em Biociências.

Área de Concentração: Genética e Biologia Evolutiva

Orientadora: Profa. Dra. Claudia Regina Bonini Domingos

Coorientadora: Profa. Dra. Flavia Cristina Rodrigues Lisoni

São José do Rio Preto

2026

R175p	Ramos Pereira, Lucas Perfil inflamatório molecular e clínico em doença falciforme: modulação da expressão gênica das vias PI3K–PTEN–PTGS2 pela hidroxiureia / Lucas Ramos Pereira. -- São José do Rio Preto, 2026 64 p. : il., tabs. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto Orientadora: Claudia Regina Bonini Domingos Coorientadora: Flavia Cristina Rodrigues Lisoni 1. Genética humana. 2. Inflamação. 3. Sistema endocanabinoide. I. Título.
-------	--

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O impacto potencial desta pesquisa consiste em ampliar a compreensão dos mecanismos inflamatórios envolvidos na anemia falciforme, por meio da análise integrada de vias inflamatórias clássicas, de sinalização intracelular e do sistema endocanabinoide. Os resultados contribuem para o entendimento da fisiopatologia da doença em diferentes fenótipos e fornecem subsídios para a avaliação do efeito modulador da hidroxiureia sobre essas vias, servindo como base para estudos futuros.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The potential impact of this research lies in advancing the understanding of inflammatory mechanisms involved in sickle cell disease through an integrated analysis of classical inflammatory pathways, intracellular signaling pathways, and the endocannabinoid system. The findings contribute to the comprehension of disease pathophysiology across different clinical phenotypes and provide insights into the modulatory effects of hydroxyurea on these pathways, serving as a foundation for future studies.

LUCAS RAMOS PEREIRA

Perfil inflamatório molecular e clínico em doença falciforme: modulação da expressão gênica das vias *PI3K–PTEN–PTGS2* pela hidroxiureia

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - IBILCE, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutor em Biociências.

Área de Concentração: Genética e Biologia Evolutiva

Data da defesa: 10/07/2026

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Claudia Regina Bonini Domingos
UNESP – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio Preto

Profa. Dra. Sônia Maria Olini
UNESP – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

Profa. Dra. Ana Paula Girol
UNIFIPA - Centro Universitário Padre Albino

Profa. Dra. Eny Maria Goloni-Bertollo
FAMERP - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Dra. Susana Renata Perez Orrico
FAMERP - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Dedico este trabalho à todas as versões de mim que precisaram se ajustar às adversidades.

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

Aos meus pais, João Paulo e Noemia, pela compreensão e pela confiança em mim e na minha capacidade.

À minha orientadora, Claudia, por, mais uma vez, acreditar no meu potencial e, mesmo diante de várias dificuldades, não me deixar desistir e fazer com que eu acreditasse ser possível.

À minha coorientadora, Flavia, por toda o conhecimento, senso crítico, companheirismo e orientação.

Ao meu irmão, Thiago, que por diversas vezes teve de ser compreensivo com minhas ausências nos almoços de domingo, em comemorações e em apresentações das crianças.

À Vó Nadir, por sempre estar norteando meus pensamentos e me fazendo compreender mais da vida.

Ao meu parceiro, Henrique, pela enorme paciência, pelo companheirismo, pelos vários momentos de escuta e pelas tentativas de solução de diversos problemas.

Aos diversos companheiros de laboratório que, desde 2013, compartilharam seus conhecimentos comigo, dividiram alguns bons momentos e fizeram desse processo de construção científica o mais leve possível, em especial à Bruna, Débora e Rafaela, que me ajudaram a manter o foco sem perder o apreço pela pesquisa, pelos bons momentos e por todo o companheirismo.

Às minhas irmãs do coração, Joyce e Laura, por toda a troca de afeto, companheirismo, horas de filmes musicais, palavras de conforto e pela presença ao longo desses anos.

Aos amigos que, embora longe, estão sempre próximos, Thaís, Marcelo, Juliana, Renato, Letícia, Guilherme e Kauan. A saudade também serve como combustível para os momentos em que eu me vi desanimado, cansado e desiludido com relação à ciência.

À família que descobri, em meio ao caos, no terreiro. Em especial à Diambu Bakulu e Kudila Kimpima, que me fizeram enxergar que a luz e a sombra fazem parte de quem eu sou e que a compreensão disso é o verdadeiro equilíbrio.

Aos amigos William, Beatriz, Pedro, Manuela, Amábilla, Emilie, Lucas Isidoro, Jakeline, Maria Clara, Henrique e Matheus Nobile, pela presença, pela amizade, pelos ótimos momentos e por todo o apoio.

Aos ancestrais, pela força, por me mostrarem o meu potencial e por me fazerem entender que o único responsável pelo meu sucesso ou pela minha falha sou eu mesmo. Em especial, com muito carinho, ao Vô Benedito, que me ensinou que a paciência é, na verdade, um caminho.

Ao Hemocentro de São José do Rio Preto e aos drs. Alexandre Lorenzetti e Octavio Ricci Jr pela abertura das portas para realização da triagem e coleta dos pacientes deste estudo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

A anemia falciforme é uma doença hereditária que inclui inflamação crônica, hemólise persistente e episódios recorrentes de dor. Entre as vias envolvidas nesses processos, destacam-se a via da prostaglandina endoperóxido sintase 2 (PTGS2), codificada pelo gene *PTGS2*, a sinalização mediada por *PI3K/PTEN* e o sistema endocanabinoide. Este estudo teve como objetivo avaliar a expressão de genes associados a essas vias inflamatórias em pacientes com doença falciforme, bem como correlacionar esses achados moleculares com marcadores hematológicos e bioquímicos de inflamação e hemólise. A expressão gênica de *PTGS2*, *PTGER4*, *PI3K*, *PTEN*, *CNR1* e *CNR2* foi analisada por PCR quantitativo em tempo real (qPCR) em nove indivíduos com genótipos HbSS cinco HbS/β⁺, em comparação com 10 controles HbAA. Os resultados de qPCR evidenciaram elevada variabilidade interindividual na expressão gênica, sem diferenças estatisticamente significativas para a maioria dos genes avaliados, exceto para *PI3K*, que apresentou maior expressão no grupo HbS/β⁺. Nos parâmetros clínico-laboratoriais, observaram-se diferenças estatisticamente significativas em neutrófilos, linfócitos, monócitos, LDH, bilirrubina indireta e ferritina após o uso de HU, enquanto o índice neutrófilo/linfócito não apresentou diferença significativa. Em conjunto, os dados sugerem que o uso crônico de hidroxiureia promove modulação do estado inflamatório e hemolítico sistêmico, podendo contribuir para a estabilização da expressão basal de genes inflamatórios. Esses achados reforçam a importância da via *PI3K* e do sistema endocanabinoide como alvos potenciais na fisiopatologia da doença falciforme e em estratégias terapêuticas futuras.

Palavras-chave: doença falciforme; inflamação; hidroxiureia; PTGS2; PI3K; sistema endocanabinoide.

ABSTRACT

Sickle cell disease is a hereditary disorder characterized by chronic inflammation, persistent hemolysis, and recurrent pain episodes. Among the pathways involved in these processes, the prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2) pathway, encoded by the *PTGS2* gene, *PI3K/PTEN*-mediated signaling, and the endocannabinoid system have been highlighted. This study aimed to evaluate the expression of genes associated with these inflammatory pathways in patients with sickle cell disease and to correlate molecular findings with hematological and biochemical markers of inflammation and hemolysis. Gene expression of *PTGS2*, *PTGER4*, *PI3K*, *PTEN*, *CNR1*, and *CNR2* was analyzed by quantitative real-time PCR (qPCR) in nine individuals with HbSS genotypes and five with HbS/ β^+ , compared with 10 HbAA controls. The qPCR results revealed high interindividual variability in gene expression, with no statistically significant differences for most genes evaluated, except for *PI3K*, which showed increased expression in the HbS/ β^+ group. Regarding clinical and laboratory parameters, statistically significant differences were observed in neutrophil, lymphocyte, and monocyte counts, as well as lactate dehydrogenase, indirect bilirubin, and ferritin levels after hydroxyurea use, while the neutrophil-to-lymphocyte ratio showed no significant difference. Overall, the data suggest that chronic hydroxyurea therapy modulates systemic inflammatory and hemolytic status and may contribute to the stabilization of basal inflammatory gene expression. These findings reinforce the relevance of the *PI3K* pathway and the endocannabinoid system as potential targets in the pathophysiology of sickle cell disease and in future therapeutic strategies.

Keywords: sickle cell disease; inflammation; hydroxyurea; *PTGS2*; *PI3K*; endocannabinoid system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Alteração na expressão das cadeias globínicas ao longo do desenvolvimento.	17
Figura 2. Mecanismos oxidativos na patofisiologia da doença falciforme, relacionando o processo de falcização do eritrócito com os eventos inflamatórios, de hemólise, disfunção endotelial, vaso-oclusão e isquemia tecidual.	21
Figura 3. Efeito multivariado da HU no organismo. 1.indução da produção de HbF; 2) Diminuição da quantidade de neutrófilos e reticulócitos pela diminuição da ação da ribonucleotideo redutase (RNR); 3) diminuição das moléculas de adesão e melhoria da reologia de neutrófilos e reticulócitos circulantes; 4) redução do processo hemolítico; 5) aumento do óxido nítrico (NO) na corrente sanguínea.	25
Figura 4. Integração das Vias PI3K/PTEN-AKT, PTGS-2/PG e Sistema Endocanabinoide na inflamação na Anemia Falciforme	32
Figura 5. Representação das etapas do estudo	35
Figura 6. Gráfico representativo do $-\Delta\Delta Ct$ dos genes propostos em comparação ao grupo controle. *-diferença estatística com o grupo controle; #-diferença estatística entre os grupos avaliados (SS e S/ β +)	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sequência dos <i>primers</i> utilizados na qPCR	36
Tabela 2. Valores de média e desvio padrão dos valores de Neutrófilos, Linfócitos, Monócitos, NLR, LDH, BI e Ferritina em pacientes com Anemia Falciforme pré e pós tratamento com HU.	37
Tabela 3. Valores de p obtidos a partir do teste de correlação de Spearman *-dados com valor de $p < 0,05$.	39
Tabela 4. Valores de $-\Delta\Delta C_t$ dos genes alvo	42
Tabela 5. Dados descritivos do grupo controle e dos pacientes com relação ao questionário de anamnese	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-AG	2-araquidonilglicerol
AEA	Anandamida
AF	Anemia Falciforme
AGM	Aorta-Gônada-Mesonefro
AKT	Proteína quinase B
AVE	Acidente Vascular Encefálico
CBD	Canabidiol
COX-2	Ciclooxigenase-2
CVO	Crise Vaso-oclusiva
DAMPs	Padrões moleculares associados a danos
DF	Doença Falciforme
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
eCB	Canabinoides Endógenos
ECS	Sistema Endocanabinoide
EPs	Receptores de Prostaglandinas
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FAAH	Hidrolase de Ácido Graxo
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
Hb	Hemoglobina
HbA	Hemoglobina A
HbA ₂	Hemoglobina A ₂
HbC	Hemoglobina C
HbE	Hemoglobina E
HbF	Hemoglobina Fetal
HbS	Hemoglobina S
HbSS	Hemoglobina S em homozigose

HDAC	<i>Histone Deacetylase</i>
HO	Radical Hidroxila
HU	Hidroxiureia ou hidroxicarbamida
I/R	Isquemia tecidual seguida por processo de reperfusão
ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
IL-1 β	Interleucina 1-Beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
LPS	Lipopolissacarídeo
MAGL	Monoacil Glicerol Lipase
MCP-1	Proteína Quimiostática para Monócitos
MMP2	Metalloproteinase 2
MMP9	Metalloproteinase 9
MMPs	Metalloproteinases de Matriz
NLRP3	<i>NOD-like Receptor protein 3</i>
NO	Óxido Nítrico
O ₂ ⁻	Íon superóxido
PAMPs	<i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i>
PGE2	Prostaglandina E2
PGH2	Prostaglandina H2
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinase
PIP2	Fosfatidilinositol-4,5-bifosfato
PIP3	Fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato
PTEN	Fosfatase Homóloga a Tensina
PTGER4	Receptor de PGE2 do Subtipo EP4
PTGS2	Prostaglandina endoperóxido sintase 2
RNA	Ácido Ribonucleico

RNAm	RNA mensageiro
RNR	Ribonucleotideo redutase
RUNX1	Runt-related transcription factor 1
SCD	Sickle Cell Disease
SNC	Sistema Nervoso Central
SNPs	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SPINK4	Serine Peptidase Inhibitor Kazal-type
STA	Síndrome Torácica Aguda
THC	Tetrahidrocanabinol
TLR-4	<i>Toll-like Receptor 4</i>
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule 1</i>

SUMÁRIO

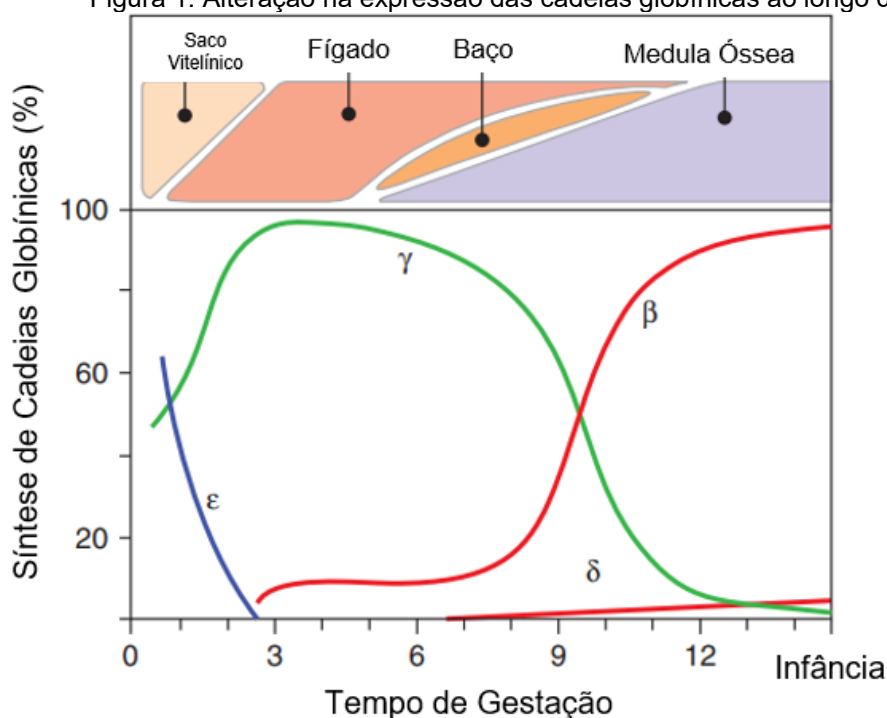
1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1. HEMOGLOBINA	17
1.1.1. Hemoglobinas Variantes	18
1.2. DOENÇA FALCIFORME.....	19
1.3. INFLAMAÇÃO NA DOENÇA FALCIFORME.....	25
1.4. SISTEMA ENDOCANABINOIDE	30
2. OBJETIVOS	33
2.1. GERAIS.....	33
2.2. ESPECÍFICOS	33
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1. CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL INFLAMATÓRIO EM PACIENTES PRÉ E PÓS TRATAMENTO COM HU	34
3.2. CASUÍSTICA	34
3.3. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	35
3.4. EXTRAÇÃO DE DNA.....	35
3.5. IDENTIFICAÇÃO DOS GENÓTIPOS DE HBS E HAPLÓTIPOS.....	35
3.6. EXTRAÇÃO DE RNAS	35
3.7. ANÁLISE DE PCR QUANTITATIVO EM TEMPO REAL	36
3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1. PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS COMO SUPORTE CLÍNICO-LABORATORIAL	38
4.2. ANÁLISE DESCRITIVA	42
4.3. ENSAIO DE QPCR PARA OS GENES <i>PTGS2</i> , <i>PTGER4</i> , <i>PTEN</i> , <i>PI3K</i> , <i>CNR1</i> E <i>CNR-2</i> DE PACIENTES SS E S/B+ EM COMPARAÇÃO AO GRUPO CONTROLE	42
5. CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE	63
APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO DE ANAMNESE.....	65

1. INTRODUÇÃO

1.1. HEMOGLOBINA

A hemoglobina (Hb) é uma proteína tetramérica de aproximadamente 65.000 daltons, constituída por quatro cadeias polipeptídicas, sendo duas cadeias alfa e duas cadeias beta associadas ao grupamento heme. Essa molécula tem como característica uma superfície interna hidrofóbica e uma superfície externa hidrofílica. Ao longo do desenvolvimento, temos diferentes tipos de hemoglobina sendo expressos. As hemoglobinas embrionárias, Gower I (duas cadeias tipo zeta associadas a duas cadeias épsilon), Gower II (duas cadeias alfa associadas a duas cadeias épsilon) e Portland (duas cadeias zeta e duas cadeias gama), expressas durante os primeiros meses do desenvolvimento, com alta afinidade pelo oxigênio e que cumprem o papel de difusão do oxigênio da placenta para os tecidos embrionários em desenvolvimento. A partir da oitava semana de desenvolvimento, a hemoglobina fetal (duas cadeias gama associadas a duas cadeias alfa) começa a ser expressa e permanece em alta taxa até o nascimento e perdura até cerca de seis meses após esse evento (Ahmed et al., 2020) (Figura 1). Um dos fatores associados à supressão da produção da gama globina é o fator de transcrição BCL11A (Orkin e Bauer, 2015, Chaturvedi et al, 2017). Essa hemoglobina (HbF) tem como principal característica a alta afinidade pelo oxigênio.

Figura 1. Alteração na expressão das cadeias globínicas ao longo do desenvolvimento.



Fonte: Adaptado de Sankaran e Orkin, 2013.

Após o nascimento essa proteína pode ser encontrada em diferentes formas, de acordo com as cadeias globínicas pelas quais são compostas, sendo: hemoglobina A (Hb A) formada por duas cadeias alfa e duas beta, que é expressa do final do período fetal e ao longo de toda a vida do indivíduo, e atinge seu máximo após o nascimento por volta dos seis a oito meses de vida, e hemoglobina A₂ (Hb A₂), expressa após o nascimento em porção minoritária. A cadeia beta substitui a cadeia gama após o nascimento e forma a Hb A na constituição sanguínea sendo esse o componente majoritário. Essas são as hemoglobinas consideradas normais para a idade adulta.(Angastiniotis et al, 2013, Chaturvedi et al, 2017, Ahmed et al., 2020).

As hemoglobinopatias são um grupo de doenças genéticas que afetam diretamente a hemoglobina. Essas alterações podem ser quantitativas, quando há diminuição ou ausência da quantidade de cadeias globínicas produzidas, o que caracteriza as chamadas talassemias, podendo afetar as cadeias alfa, beta, delta e gama, principalmente (Sadiq et al., 2024). Além disso, as alterações podem ser qualitativas, afetando a estrutura, função e até afinidade ao oxigênio da hemoglobina, sendo estas consideradas hemoglobinas variantes.

1.1.1. HEMOGLOBINAS VARIANTES

As hemoglobinas variantes recebem essa nomenclatura pois sofreram algum tipo de alteração em sua estrutura. Essas alterações podem afetar tanto cadeias tipo alfa quanto cadeias tipo beta e podem ser originárias de mutações pontuais, adições ou até mesmo deleções nos genes responsáveis pela síntese das cadeias. Essas alterações muitas das vezes são silenciosas, uma vez que não alteram função, estabilidade ou solubilidade da hemoglobina, mas outras podem causar redução da solubilidade, como as hemoglobinas S e C, instabilidade ou até mesmo modificação na afinidade ao oxigênio. (Wild e Bain, 2017). Segundo o censo Nacional de 2014-2015, no Brasil as hemoglobinas variantes predominantes são S, C, D e E. (Rosenfeld et al., 2017)

Na Doença Falciforme, uma mutação no gene que determina a cadeia beta, localizado no braço curto do cromossomo 11, resulta na troca de um aminoácido (ácido glutâmico) por outro (valina) na posição seis da cadeia e, conseqüentemente, a síntese de uma cadeia alterada (β^S), que se dimeriza e se liga a um dímero de cadeia alfa, formando outro tipo de hemoglobina, a S (HbS). A HbS é encontrada principalmente em heterozigose, recebendo o nome de traço falciforme. Quando em

homozigose é denominada anemia falciforme (AF) e apresentando-se associada a outras hemoglobinopatias, recebe o nome de doença falciforme (DF). (Ballas, 2015)

A hemoglobina C (HbC) é decorrente de uma mutação pontual na posição seis da cadeia da beta globina que causa a substituição de um ácido glutâmico por lisina. Essa alteração tem como resultado a modificação da carga elétrica de hemoglobina e consequentemente sua solubilidade, que diminui. Em heterozigose, essa alteração não causa sintomas nos indivíduos, mas em homozigose ou associada a outras condições como talassemias, pode causar sintomas moderados como anemia hemolítica. (Rosenfeld et al., 2017; Karna et al., 2023)

A hemoglobina D (HbD) é uma variante estrutural da hemoglobina resultante de uma mutação pontual no gene da β -globina, caracterizada pela substituição do ácido glutâmico por glutamina na posição 121 da cadeia da beta globina. A variante mais conhecida é a HbD-Punjab (também denominada HbD-Los Angeles), que apresenta ampla distribuição geográfica, embora com baixa prevalência no Brasil. De forma isolada, a HbD geralmente não está associada a manifestações clínicas significativas. No entanto, quando em associação com outras hemoglobinas variantes, especialmente a hemoglobina S (HbS), pode originar quadros clínicos semelhantes à doença falciforme, com manifestações variáveis de anemia hemolítica e eventos vasculares. (Pandey et al., 2012; Shamooin et al., 2025)

A hemoglobina E (HbE) é resultado de uma mutação pontual na posição 26 da cadeia da beta globina, essa alteração leva à formação de uma cadeia menos eficiente e mais instável de hemoglobina. Além disso, essa mutação afeta diretamente o splicing do RNA mensageiro (RNAm), reduzindo a produção de cadeia beta globina, dando à HbE, uma característica de talassemia beta leve. Recentemente, tem sido alvo de pesquisas relacionadas à edição genética, por conta de sua alta prevalência no sudoeste asiático (Fucharoen e Weatherall, 2012; Rosenfeld et al., 2017; Badat et al., 2023)

1.2. DOENÇA FALCIFORME

A classificação como DF inclui todas as formas de interação entre a Hb S e outras hemoglobinopatias e talassemias; em termos de gravidade clínica o estado homozigoto (HbSS), a AF, é o mais significativo. Em associação com beta talassemias, seu genótipo pode ser S/β^+ , no qual há um alelo da beta globina com a mutação da HbS e o outro alelo, não mutado, tem sua expressão parcialmente inibida.

Outro genótipo possível seria S/β^0 , no qual apenas um alelo é mutado para HbS, enquanto o outro é totalmente inibido, não produzindo cadeias de beta globina. (Ballas, 2015; Kavanagh et al., 2022)

Essa molécula de hemoglobina tem a tendência de se polimerizar, ligando-se a outras moléculas de HbS e modificando a sua ligação às moléculas de oxigênio. A polimerização então causa a deformação do eritrócito até ter um formato de foice. Assim, o eritrócito tem seu tempo de vida útil diminuído e sua capacidade de oxigenação do sistema comprometida. Esse processo também deixa as moléculas de oxigênio livres na corrente sanguínea, produzindo o oxigênio molecular - O_2^- , que, por sua vez, incorpora elétrons livres, adquirindo carga negativa como um íon superóxido. Estas moléculas podem se ligar à membrana, causando lesões, levando inclusive a processos de hemólise (fagocitose dos eritrócitos pelos macrófagos). Podem também se ligar a moléculas de HbS, dando origem a moléculas de metemoglobina, que se agregam, formando corpúsculos de Heinz. Estes corpúsculos se precipitam na membrana expondo moléculas de fosfatidilserina. A falcização dos eritrócitos traz diversas consequências, entre elas a vaso-oclusão, disfunção endotelial e o início de um processo inflamatório. (Buchanan et al., 2010; Ballas, 2015; Inusa et al., 2019; Tebbi, 2022)

Em resposta à anemia hemolítica, pode-se observar o aumento da pressão sanguínea, a dilatação ventricular e o estresse da parede do vaso sanguíneo. A hemoglobina livre resultante do evento de hemólise ainda diminui a quantidade de óxido nítrico (NO) na circulação. Esse evento decorre da interação da hemoglobina livre com o NO, o que resulta na produção de metemoglobina. Essas condições, quando somadas, potencializam os danos à parede do vaso, provocando a disfunção do endotélio. Além disso, pacientes com o aumento da taxa de hemólise têm maiores chances de desenvolver complicações em diferentes órgãos como hipertensão pulmonar, hipoxemia, infartos cerebrais e até mesmo acidente vascular encefálico (AVE). (Mack e Kato, 2006; Sundd; Gladwin; Novelli, 2019; Tebbi, 2022)

O grupo heme, em sua forma normal ou oxidada, é um agonista de *Toll-like receptor 4* (TLR-4), um receptor de membrana relacionado com o processo de reação de resposta imune inata. Esse grupo possui potencial para desencadear um estado pró-inflamatório e pró coagulante na DF, o que acarreta a ativação de leucócitos, plaquetas e geração de espécies reativas de oxigênio (ERO). Essa produção de ERO na doença falciforme é desencadeada pela autooxidação da HbS, que produz íons

e moduladores da concentração de HbF. (Ballas, 2005; Fertrin; Costa, 2010; Ballas, 2015; Chaturvedi et al., 2017; Steinberg et al., 2019; Hebbel, 2020).

Haplótipos são combinações específicas de variações genéticas, como SNPs, que ocorrem juntas num mesmo segmento de DNA e são herdadas em conjunto. Na AF, esses marcadores podem auxiliar no processo de rastreamento de origens evolutivas e na previsão de alguns padrões clínicos. Em geral, haplótipos podem afetar a produção de HbF, agravando o quadro clínico dos pacientes. Embora Okumura et al. (2017) tenham descrito vários haplótipos de beta-globina atípicos, em ordem decrescente de produção de HbF, temos os haplótipos: Senegal, Arab-Indian, Benin, Cameroon e CAR/Bantu, como sendo os principais haplótipos originários. Destes, o com clínica mais grave associada é o haplótipo Bantu/CAR e os mais brandos são Senegal e Arab-Indian. (Okumura *et al.*, 2017; Alsamiri *et al.*, 2021)

Pode-se dizer que, no indivíduo com DF ou com AF, a dor é constante e pode ter diversas causas e desdobramentos. Pesquisas apontam alguns tipos específicos de dor na DF em decorrência de manifestações clínicas como a crise vaso-oclusiva, a síndrome torácica aguda, a úlcera de perna e a necrose avascular/osteonecrose. É importante ressaltar que, não necessariamente, um paciente tem apenas um desses sintomas por vez; muitas vezes eles ocorrem de forma concomitante ao longo da vida. (Ballas, 2015; Rees et al., 2022).

Na AF, a dor pode ser classificada como aguda, quando é pontual e passageira, ou crônica, quando a dor persiste por um período maior do que três meses. A dor aguda se origina a partir da fisiopatologia da doença, o que inclui as manifestações como úlcera de perna, síndrome torácica e vaso-oclusão. Já a dor crônica pode ser de dois tipos: a) a de causas diretas, como úlcera de perna e vaso-oclusão; e b) a de causas desconhecidas, nas quais não se sabe qual é o gatilho do processo. A partir de repetidas crises vaso-oclusivas, e a constante exposição a mediadores inflamatórios, ocorre uma plasticidade patológica do Sistema Nervoso Central (SNC), que leva a uma sensibilização central, resultando em redução dos limiares de dor, alodinia e hiperalgesia. Ainda, a dor crônica na AF pode ter componentes neuropáticos, como formigamento, queimação ou pontadas. Em ambos os casos, o tratamento padrão é feito à base de analgésicos opioides, muitas vezes em dosagem máxima ao longo do dia (Ballas, 2005; Buchanan et al., 2010; Queiroz e Lima, 2013; Aich et al., 2016; Steinberg et al., 2019; Takaoka et al., 2021; Vona et al., 2021).

Ainda com relação à dor, podemos destacar uma cascata de fenômenos que culminam em uma crise vaso-oclusiva: polimerização da HbS, falcização dos eritrócitos que, por sua vez se tornam rígidos e aderentes, obstrução das vênulas pós-capilares, em conjunto com leucócitos ativados, plaquetas e células endoteliais, microinfartos e hipóxia local. Nessa etapa, o tecido afetado sofre necrose, liberação de padrões moleculares associados a danos (DAMPs), ativação imune e inflamação (Sundd et al., 2020; Elendu et al., 2023). Essa lesão tecidual ainda promove a liberação de mediadores inflamatórios como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1-beta (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6). Esses mediadores sensibilizam nociceptores, tornando-os hiperexcitáveis, o que, junto com a ativação de células da glia e o aumento de citocinas no SNC intensificam a dor. Além disso, as ERO danificam lipídios, proteínas e DNA, aumentando ainda mais as lesões teciduais e a inflamação, junto com esse efeito sistemático, as ERO ainda aumentam a excitabilidade neuronal, contribuindo para uma hipersensibilidade à dor (Aich et al., 2016; van Beers e van Wijk, 2018; Takaoka et al., 2021; Vona et al., 2021).

Com relação ao tecido sanguíneo, seu fluxo depende de algumas características para que ocorra normalmente. Entre elas, podemos destacar a viscosidade do sangue, o hematócrito e o formato eritrocítico. O dano à membrana do eritrócito pode causar um episódio de hemólise, ou seja, a destruição do eritrócito antes do tempo previsto. Esse processo interfere diretamente na atividade da medula óssea, que libera reticulócitos (eritrócitos imaturos) na corrente sanguínea com a finalidade de suprir a demanda de oxigênio do sistema, decorrente da lise caracterizada pela anemia hemolítica. A precipitação da metemoglobina na membrana do eritrócito expõe moléculas de adesão, como a fosfatidilserina. Este fosfolípido promove a aderência entre esses eritrócitos, levando à oclusão total ou parcial do vaso sanguíneo, causando o processo denominado isquemia - falta de oxigenação - do tecido local. Esse processo de vaso-oclusão é majoritariamente responsável pela ocorrência de crise vaso-oclusiva (CVO), principal intercorrência da DF que demanda atendimento médico emergencial (Kaul; Finnegan; Barabino, 2009; Barabino; Platt; Kaul, 2010; Manwani; Frenette, 2013; Ballas, 2015; Zhang et al., 2016; Inusa et al., 2019).

Apesar de toda a gama de pesquisas existentes com a DF, ainda são escassos os tratamentos para suas complicações clínicas. Por isso, a abordagem se reveza em algumas possibilidades, sendo elas:

a) tratamento sintomático: no qual medicamentos são prescritos de acordo com a manifestação da doença, uma vez que esta é caracterizada em diferentes tipos, como síndrome torácica aguda, úlcera de perna, necrose óssea, dentre outros. A dor é o principal sintoma e é comumente tratada com analgésicos opioides, o que por si só tem alto potencial de causar dependência e progressiva tolerância do organismo. Em muitos dos casos, o paciente encontra-se em uso da dosagem máxima do medicamento e, ainda assim, não fica livre de dor (Ballas, 2005). Além disso é recomendado manter uma boa hidratação, para manutenção da viscosidade sanguínea e suplementação com ácido fólico, para auxiliar na produção de eritrócitos. (Reparaz et al., 2022; Brasil, 2024)

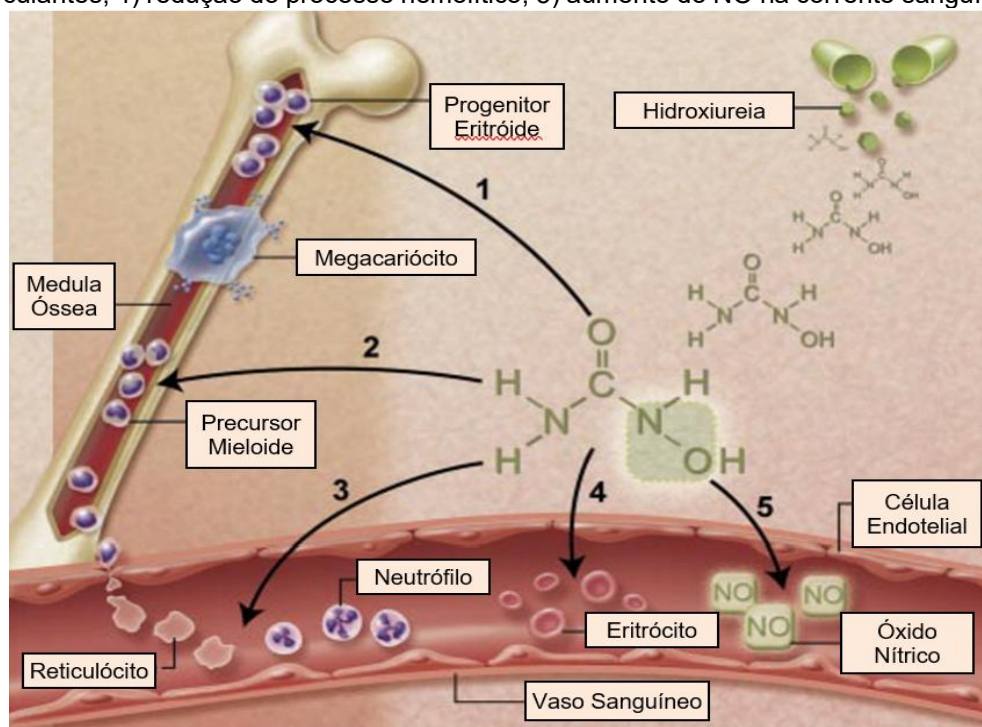
b) O tratamento preventivo tem como principal foco impedir o processo de vaso-oclusão, tendo várias possibilidades, como a prevenção do processo de infecção, a indução da produção de Hb F pela medula óssea pelo uso de HU e a transfusão sanguínea, a fim de auxiliar no processo de captação e distribuição de oxigênio pelo sistema com novas células não falcizadas. (Russel et al., 1984; Platt et al., 1991; Steinberg et al., 2003; Steinberg et al., 2010; Drasar et al., 2011; Almeida et al., 2012; Ballas, 2015; Telen, 2019; Xu, 2022; Brasil, 2024; Khargekar et al., 2024). Além de promover o aumento da quantidade de HbF por alteração na via da ribonucleotideo redutase (RNR) no organismo, a HU tem efeito multifatorial, como a mielopoiese redução na expressão de moléculas de adesão na superfície das células, diminuição da inflamação crônica e aumento da concentração de NO (Figura 3) (McGann e Ware, 2015; Khargekar et al., 2024).

c) No tratamento agudo, a ideia é encerrar o processo de vaso-oclusão a fim de evitar maiores danos ao organismo, fazendo uso de uma combinação de vasodilatadores, agentes anti-adesão, a fim de separar o coágulo que está bloqueando o fluxo sanguíneo, e agentes anti-inflamatórios. O óxido nítrico (NO) é utilizado como principal vasodilatador. (Gladwin et al., 2011; Ballas, Gupta, Adams-Graves, 2012; Ballas, 2015; Telen, 2019; Brasil, 2024).

d) No tratamento de cura, diversos métodos vêm sendo pesquisados, porém, têm-se conhecimento de sucesso, principalmente, do transplante de medula óssea, que tem como resultado a liberação de células sem Hb S na corrente sanguínea, favorecendo a correta oxigenação do sistema e, também, diminuindo as crises decorrentes da DF. Contudo, ainda há a barreira dos doadores haploidênticos, que nem sempre é o caso dos familiares. (Walters et al., 2000; Buchanan, 2009; Hsieh et

al., 2014; Ballas, 2015; Joseph et al., 2018; Brasil, 2024). Uma nova tecnologia de edição gênica, CRISPR/Cas9 também tem sido promissora no tratamento definitivo da AF a partir de diferentes aplicações, como a correção da produção das cadeias de beta globina mutadas e o estímulo à produção de cadeias gama, envolvidas na formação da HbF (Ma et al., 2023; Kassim et al., 2025).

Figura 3. Efeito multivariado da HU no organismo. 1.indução da produção de HbF; 2) Diminuição da quantidade de neutrófilos e reticulócitos pela diminuição da ação da RNR; 3) diminuição das moléculas de adesão e melhoria da reologia de neutrófilos e reticulócitos circulantes; 4) redução do processo hemolítico; 5) aumento do NO na corrente sanguínea.



Fonte: Ware, 2010 - com modificações.

1.3. INFLAMAÇÃO NA DOENÇA FALCIFORME

A inflamação é um processo de sinalização do organismo a fim de manter sua homeostase. Esse processo é caracterizado pela ativação de vias de sinalização a partir de mediadores pró-inflamatórios (como os endocanabinoides) e pode ser desencadeado, por exemplo, no contato com possíveis patógenos e quando ocorrem lesões teciduais no organismo. Esse processo pode ser classificado, principalmente, em dois tipos: inflamação aguda e crônica.

A inflamação aguda é iniciada por células como macrófagos e mastócitos, que reconhecem patógenos (*Pathogen Associated Molecular Patterns* – PAMPs) ou padrões de danos teciduais/celulares (DAMPs). Esse estado inflamatório é temporário e é caracterizado pela presença de citocinas pró-inflamatórias e eicosanoides

derivados do ácido araquidônico. Em caso de sucesso em conter os PAMPs ou DAMPs, as células endoteliais e imunes entram em um estado de contenção do processo inflamatório, estimulando a produção de mediadores lipídicos pró-resolutivos. (Widgerow, 2012; Leuti et al., 2020; Rasquel-Oliveira et al., 2023).

A inflamação crônica ocorre quando há a persistência e/ou intensificação do estado inflamatório, e têm como principal efeito a produção desenfreada de moléculas pró-inflamatórias, além de inibidores de células T regulatórias. Esse processo, se não resolvido, pode levar, dentre outras consequências, à fibrose e perda de função tecidual. (Levy et al., 2001; Leuti et al., 2020). Um tipo específico de inflamação crônica que ocorre na anemia falciforme é a chamada inflamação estéril. Esta é causada pelo estresse oxidativo gerado no fenômeno I/R e ocorre no lúmen dos vasos sanguíneos. Nesta, as células recrutadas pela atividade inflamatória, como neutrófilos e macrófagos, ficam agregadas no endotélio dos vasos, gerando uma crise vaso-oclusiva. (Ferhat et al., 2018; Williams, 2018; Sund, 2019; Mázló, 2022).

Entre as principais vias de sinalização envolvidas na modulação da inflamação destaca-se a via da fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K), uma família de quinases lipídicas responsável pela transdução de sinais provenientes de receptores de citocinas, receptores tirosina-quinase e receptores do tipo Toll. A ativação da PI3K resulta na fosforilação do fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP2) em fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3), promovendo o recrutamento e a ativação da proteína quinase B (AKT), evento central para a amplificação de respostas inflamatórias e de sobrevivência celular (Engelman et al., 2006; Vanhaesebroeck et al., 2010). A sinalização via PI3K/AKT atua como um eixo crítico na regulação da inflamação e da polarização de células imunes, afetando a expressão de citocinas e a duração da resposta inflamatória em modelos experimentais e clínicos de doenças inflamatórias. (He et al., 2021; Xia et al., 2023)

O PTEN (*phosphatase and tensin homolog*), codificado pelo gene de mesmo nome, atua como um regulador negativo crucial da via PI3K/AKT, funcionando como uma fosfatase lipídica que converte o sinal ativo (PIP3) de volta a PIP2, limitando a ativação de AKT e de suas respostas celulares subsequentes. Essa função de freio molecular é essencial para evitar ativações excessivas da sinalização inflamatória e da produção de citocinas pró-inflamatórias, especialmente em contextos de estresse oxidativo e sinais persistentes de dano celular. Estudos recentes demonstraram que a redução da expressão ou atividade de PTEN está associada à superativação de

PI3K/AKT e à amplificação de respostas inflamatórias, implicando a perda de PTEN como um evento que intensifica a inflamação crônica em vários modelos de doença. (Sansal, Sellers, 2004; Mei et al., 2024; Liu et al., 2025)

Além de sua função na regulação da sobrevivência e proliferação celular, o PTEN também atua como um *checkpoint* inflamatório em células do sistema imune. Trabalhos recentes em modelos animais com deleção específica de PTEN em linfócitos B revelaram que a ausência de PTEN resulta em produção elevada de IL-6 e em respostas inflamatórias exacerbadas, mostrando que PTEN modula diretamente vias de reconhecimento de padrões como TLR9 e a produção de citocinas pró-inflamatórias. Esses achados reforçam o papel de PTEN não apenas como um freio da via PI3K/AKT, mas também como um modulador fino da resposta imune inflamatória. (Tsai et al., 2024)

A prostaglandina endoperóxido sintase 2, anteriormente denominada ciclooxigenase-2 (COX-2), é codificada pelo gene *PTGS2*, e é uma enzima induzível que catalisa a conversão de ácido araquidônico em PGG2 e, posteriormente em PGH2. A PGH2 é então transformada em diversas prostaglandinas, sendo a PGE2 uma das principais envolvidas no processo inflamatório. Esta prostaglandina atua em receptores específicos, de EP1 a EP4, em diferentes células. Essa ligação promove vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, febre e sensibilização à dor. Além disso, a PGE2 pode modular a resposta imune, influenciando a atividade de células T, células dendríticas e macrófagos. Em geral, a *PTGS2* é ausente em condições fisiológicas e é induzida em resposta a estímulos inflamatórios, como citocinas pró-inflamatórias e endotoxinas. (Martín-Vazquez et al., 2023; Tajdari et al., 2024).

A *PTGS2* é uma enzima oxidante da cascata do ácido araquidônico, sendo responsável por catalisar a produção de prostaglandinas culminando na liberação de citocinas (Zmigrodzka et al., 2018; Schaeuble et al., 2019), a *PTGS2* reconhece endocanabinoides que contêm ácidos graxos poli-insaturados (Leuti et al., 2020). Essa via tem papel importante no processo inflamatório ao estimular a conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas que, por sua vez, ativam o receptor *PTGER4*, que regula a expressão de metaloproteinases de matriz (MMPs) MMP2 e MMP9. Estas têm como função degradar componentes de matriz celular, incitando parte do processo inflamatório ao causar uma conversão no processo de vascularização (Aggarwal; Sales, 2001; Libra et al., 2009; Adefuye et al., 2012).

Esse processo inflamatório pode ser caracterizado pelo recrutamento de neutrófilos para o local de obstrução total ou parcial do vaso sanguíneo (isquemia), o que, junto com o aumento da adesão celular por conta da polimerização da molécula de hemoglobina S, contribui ainda mais para efeitos adversos na fisiopatologia da doença. Esse processo, ainda, contém a atuação de outros componentes, como o fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina 1 (IL-1) e IL-8. Diante do estresse oxidativo crônico e da ativação endotelial persistente na DF, a via PTGS2 é potencialmente ativada, contribuindo para a perpetuação do estado inflamatório crônico (Hoppe, 2014; Torres et al., 2016; Tozatto-Maio et al., 2024).

A hemólise, uma das consequências da DF, libera hemoglobina livre e o grupo heme no plasma. Estes podem atuar como DAMPs, ativando receptores como o TLR4 em células endoteliais e imunes, desencadeando diversas respostas inflamatórias. (Tozatto-Maio et al., 2024)

A ativação endotelial induzida pelos DAMPs e citocinas pró-inflamatórias resultam na expressão de moléculas de adesão como VCAM-1, ICAM-1, E-selectina e P-selectina que, por sua vez, facilitam a adesão de leucócitos e eritrócitos falcizados ao endotélio. Além disso, neutrófilos podem formar armadilhas extracelulares, favorecendo os eventos vaso-oclusivos e consequentemente a lesão tecidual. Os DAMPs também ativam o inflamassoma NLRP3 em monócitos e macrófagos, levando à ativação da caspase-1 e à liberação de IL-1 β e IL-18, o que pode resultar em piroptose, contribuindo ainda mais no agravamento do quadro inflamatório. (Nader et al., 2020; Tozatto-Maio et al., 2024)

A sinalização via PI3K/AKT é um eixo central na transdução de sinais pró-inflamatórios, mediando a ativação de células imunes e a expressão de mediadores inflamatórios em vários contextos de doença crônica. Estudos recentes demonstraram que a ativação dessa via influencia a expressão de PTGS2 em resposta a estímulos inflamatórios, enquanto a perda funcional de seu regulador negativo, PTEN, prolonga a ativação de AKT e exacerba a inflamação e o estresse oxidativo em modelos experimentais. Essa integração funcional sugere que a via PI3K/AKT/PTEN– PTGS2 atua como um controlador dinâmico da resposta inflamatória e pode representar um alvo terapêutico em doenças caracterizadas por inflamação crônica. (Covey et al., 2007; Yang et al., 2020; Liu et al., 2025)

A anemia falciforme é acompanhada por um estado de inflamação crônica no qual a ativação do endotélio e a sinalização por heme/hemólise favorecem o

recrutamento e a ativação de células da imunidade inata, particularmente neutrófilos e monócitos. Evidências recentes reforçam que neutrófilos não são apenas marcadores de inflamação na AF, mas participantes ativos da fisiopatologia, contribuindo para adesão ao endotélio, interações com plaquetas e perpetuação de eventos vaso-oclusivos; por isso, a contagem de neutrófilos (idealmente absoluta) é frequentemente interpretada como um indicador de ativação inflamatória sistêmica em pacientes com AF (de Ligt et al., 2024; Tozzato-Maio et al., 2024; Dorneles, 2025).

Embora a imunidade inata seja central na AF, alterações de linfócitos e monócitos podem refletir aspectos complementares do estado inflamatório e imunorregulatório. Monócitos apresentam perfil pró-inflamatório e podem ser ativados por vias relacionadas a TLR e ao microambiente hemolítico, contribuindo para a ativação endotelial e para a amplificação de mediadores inflamatórios. Assim, a avaliação conjunta de neutrófilos, linfócitos e monócitos permite capturar, de forma indireta, o equilíbrio entre imunidade inata e adaptativa e o quadro sistêmico, o que é útil como camada externa de validação para achados moleculares (Tozzato-Maio et al., 2024; Dorneles, 2025).

O índice neutrófilo/linfócito (NLR) tem sido amplamente utilizado como marcador composto de inflamação sistêmica em condições crônicas e, mais recentemente, vem sendo discutido também na anemia falciforme como ferramenta simples e reprodutível para estimar ativação inflamatória e potencial gravidade/risco de complicações. Como integra duas populações celulares com significado fisiopatológico distinto (inata vs adaptativa), o NLR pode funcionar como uma abordagem do perfil inflamatório periférico, servindo como variável clínica/laboratorial de apoio para interpretar resultados de expressão gênica associados a inflamação (Maharaj, 2023). Além disso, um estudo avaliou diretamente o índice NLR em consonância com outros marcadores inflamatórios, como IL-6 e TNF- α , em pacientes com doença falciforme em tratamento com hidroxiureia (HU) e concluiu que o tratamento reduz esse índice, sendo associado então a uma ação anti-inflamatória. (Zahran et al., 2020)

Na anemia falciforme, a hemólise crônica não é apenas um fenômeno hematológico: ela se conecta diretamente à inflamação por liberação de hemoglobina/heme e por disfunção endotelial. Nesse contexto, a enzima Lactato desidrogenase (LDH) é um marcador laboratorial amplamente empregado para estimar hemólise e dano tecidual, e estudos recentes continuam explorando sua utilidade clínica, inclusive em

associação com desfechos como crise vaso-oclusiva e complicações em estado estável. Paralelamente, marcadores tradicionais como bilirrubina total e frações, como a bilirrubina indireta, relacionada à hemólise/extravascular, são frequentemente analisados em conjunto com LDH para caracterizar o fenótipo hemolítico, compondo um painel bioquímico que ajuda a contextualizar a carga inflamatória e vascular da doença (Feugray, 2023; Liu, 2025).

A ferritina sérica funciona como proteína de fase aguda, elevando-se em inflamação e participa da avaliação de status de ferro/sobrecarga, relevante em AF por transfusões e outras condições clínicas. Por isso, níveis de ferritina podem ser interpretados como um marcador híbrido que associa inflamação com a presença de ferro na corrente sanguínea (Castro, 2024; Guindo, 2025).

1.4. SISTEMA ENDOCANABINOIDE

O sistema endocanabinoide (ECS) é um importante sistema fisiológico envolvido na regulação e equilíbrio de várias funções e processos no corpo humano, incluindo plasticidade cerebral, aprendizagem, memória, diminuição do estresse, emoções, dor, resposta imunológica, inflamação, apetite, dentre outras. Um desequilíbrio nesse sistema pode impactar negativamente o organismo. O ECS consiste de três principais componentes:

- a) receptores canabinoides, sendo os mais estudados o CB1R e CB2R;
- b) canabinoides endógenos (eCB) como a anandamida (AEA) e o 2-araquidonilglicerol (2-AG);
- c) enzimas metabólicas como a amida hidrolase de ácido graxo (FAAH) e a monoacilglicerol lipase (MAGL).

Especificamente com relação aos receptores, o CB-1, expresso pelo gene *CNR1* se encontra principalmente no SNC e sua ativação resulta em uma supressão robusta da liberação de neurotransmissores nas sinapses; e o CB-2, expresso pelo gene *CNR2*, está localizado nas células do sistema imune, e quando ativado, modula a migração de células desse sistema e a liberação de citocinas, atuando no processo inflamatório (Zhang e Ho, 2015).

Com relação aos fitocanabinoides, o THC atua nos receptores CB-1, enquanto o β -cariofileno (um terpeno) atua nos receptores CB-2. É importante ressaltar que esses fitocanabinoides conseguem mimetizar os efeitos dos endocanabinoides, como a AEA e o 2-AG (Sallaberry e Astern, 2018). Ainda, com relação ao ECS, podemos

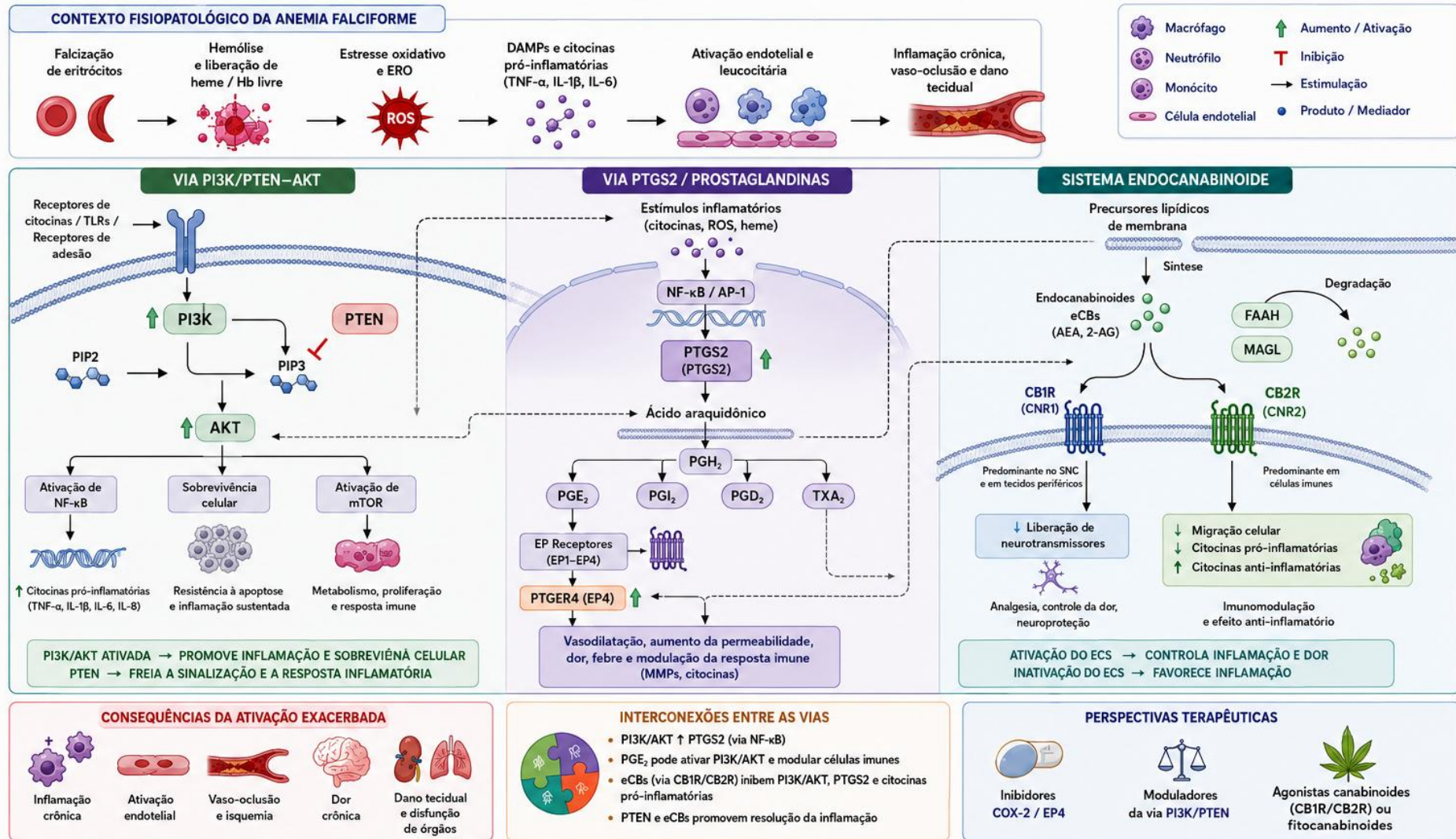
citar a possível ocorrência do efeito *entourage* (Ben-Shabat et al., 1998; Shin et al., 2025). Diversas plantas têm sido utilizadas, há muito tempo, por diversas culturas por conta de seus potenciais de ação no organismo para a anestesia e analgesia. Ainda assim, alguns desses compostos vêm sendo reconhecidos pela medicina e pela legislação recentemente, o que se aplica a *Cannabis sativa*. Apesar disso, os estudos com o tetraidrocannabinol (THC) e o canabidiol (CBD), que são os principais componentes da *Cannabis*, ainda são escassos e carecem de mais atenção. Dados na literatura relacionam o uso de medicamentos derivados da *Cannabis* com o efeito de analgesia e alívio da dor, sendo este seu principal uso enquanto medicamento. (Bonfá et al., 2008; Academies Of Science, 2017; Hill et al., 2017; Cahill, 2021). Entender a farmacologia da *Cannabis* é essencial para auxiliar na compreensão dos efeitos colaterais e seu uso medicinal (Zang e Ho, 2015).

A doença falciforme e, em especial, a anemia falciforme, tem variáveis fisiopatológicas e de sintomatologia entre genótipos, haplótipos, relação com marcadores moleculares e resposta ao uso de medicamentos. Uma alternativa aos opioides no tratamento de dor na AF tem sido investigada, especialmente com base em plantas naturais, devido ao risco e consequências danosas do uso continuado dessa classe de analgésicos ao longo da vida.

Ainda são poucos os estudos que correlacionam diferentes vias inflamatórias com os diferentes genótipos e haplótipos na Doença Falciforme. Além disso, há também a questão do tratamento com Hidroxiureia ser bastante difundido, devido à sua eficácia, o que influencia diretamente nos dados coletados.

A figura 4, gerada por inteligência artificial, integra de maneira visual as vias estudadas.

Figura 4. Integração das Vias PI3K/PTEN-AKT, PTGS-2/PG e Sistema Endocanabinoide na inflamação na Anemia Falciforme



Fonte: Adaptado de ChatGPT em 02/07/2026 a partir do prompt: "Pode gerar uma imagem que integre as vias de expressão dos genes PTGS2, PTGER-4, PI3K, PTEN, CNR1 e CNR2?"

5. CONCLUSÃO

Este estudo avalia a expressão de genes relacionados a vias inflamatórias clássicas, vias de sinalização intracelular e ao sistema endocanabinoide em pacientes com anemia falciforme, considerando diferentes fenótipos da doença e o contexto terapêutico com hidroxiureia. Os resultados demonstram a modulação da expressão de *PI3K* e *CNR1*, particularmente no grupo HbS/β+, indicando que fenótipos clinicamente intermediários podem apresentar alterações moleculares específicas. Em contraste, os genes *PTEN*, *PTGS2*, *PTGER4* e *CNR2* não apresentam diferenças significativas entre os grupos avaliados, sugerindo a atuação de mecanismos regulatórios, compensatórios ou contextuais que limitam a detecção de alterações transcricionais em sangue periférico. De forma integrada, os achados indicam que a anemia falciforme envolve alterações heterogêneas em múltiplas vias inflamatórias e de sinalização, influenciadas tanto pelo fenótipo genético quanto pelo tratamento contínuo com hidroxiureia. Este estudo contribui para a compreensão da fisiopatologia inflamatória da doença e fornece bases conceituais para futuras investigações.

REFERÊNCIAS

- ABRAMS, D. I. et al. Effects of inhaled cannabis for pain in adults with sickle cell disease. *JAMA Network Open*, Chicago, v. 3, n. 7, e2010874, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.10874>
- ADEFUYE, A.; SALES, K. Regulation of inflammatory pathways in cancer and infectious disease of the cervix. *Scientifica (Cairo)*, Cairo, p. 1–8, 2012. DOI: <https://doi.org/10.6064/2012/548150>
- AGGARWAL, B. B. et al. Inflammation and cancer: how hot is the link? *Biochemical Pharmacology*, Oxford, v. 72, n. 11, p. 1605–1621, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.06.029>
- AHMED, M. H.; GHATGE, M. S.; SAFO, M. K. Hemoglobin: structure, function and allostery. *Sub-cellular Biochemistry*, Cham, v. 94, p. 345–382, 2020. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-41769-7_14
- AICH, A.; BEITZ, A. J.; GUPTA, K. Mechanisms of pain in sickle cell disease. In: GUPTA, K. (ed.). *Sickle Cell Disease - Pain and Common Chronic Complications*. London: InTechOpen, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/64647>
- ALMEIDA, C. B. et al. Hydroxyurea and a cGMP-amplifying agent have immediate benefits on acute vaso-occlusive events in sickle cell disease mice. *Blood*, Washington, v. 120, n. 14, p. 2879–2888, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2012-02-409524>
- ALSAMIRI, A. et al. A cross-sectional study of detection of beta globin (HBB) haplotypes among beta thalassemia patients. *Cureus*, Palo Alto, v. 13, n. 2, e13367, 2021. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.13367>
- ANBAZHAGAN, M. et al. PTGER4 signaling regulates class IIa HDAC function and SPINK4 mRNA levels in rectal epithelial cells. *Cell Communication and Signaling*, London, v. 22, p. 493, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12964-024-01879-1>
- ANGASTINIOTIS, M. et al. *Prevention of Thalassaemias and Other Haemoglobin Disorders: Volume 1: Principles*. 2. ed. Nicosia (Cyprus): Thalassaemia International Federation, 2013.
- ARAN, A. et al. Brief report: cannabidiol-rich cannabis in children with autism spectrum disorder and severe behavioral problems – a retrospective feasibility study. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, New York, v. 49, n. 3, p. 1284–1288, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10803-018-3808-2>
- BADAT, M. et al. Direct correction of haemoglobin E β -thalassaemia using base editors. *Nature Communications*, London, v. 14, n. 1, p. 2238, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37604-8>
- BALLAS, S. K. Pain management of sickle cell disease. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, Philadelphia, v. 19, p. 785–802, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2005.07.008>

BALLAS, S. K. *Sickle cell pain*. 2. ed. Seattle: IASP Press, 2015.

BALLAS, S. K.; GUPTA, K.; ADAMS-GRAVES, P. Sickle cell pain: a critical reappraisal. *Blood*, Washington, v. 120, n. 18, p. 3647–3656, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2012-04-383430>

BARABINO, G. A.; PLATT, M. O.; KAUL, D. K. Sickle cell biomechanics. *Annual Review of Biomedical Engineering*, Palo Alto, v. 12, p. 345–367, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-070909-105339>

BELCHER, J. D. et al. Heme triggers TLR4 signaling leading to endothelial cell activation and vaso-occlusion in murine sickle cell disease. *Blood*, Vol. 123 n. 3, P. 377–390, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-495887>

BEN-SHABAT, S. et al. An entourage effect: inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2-arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. *European Journal of Pharmacology*, Amsterdam, v. 353, n. 1, p. 23–31, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(98\)00392-6](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(98)00392-6)

BERTI, A. C. M. et al. The endocannabinoid system's genetic polymorphisms in sickle cell anemia patients. *Scientific Reports*, London, v. 14, n. 1, p. 31562, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-76480-0>

BONFÁ, L.; VINAGRE, R. C. de O.; FIGUEIREDO, N. V. de. Uso de canabinoides na dor crônica e em cuidados paliativos. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, São Paulo, v. 58, n. 3, p. 267–279, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0034-70942008000300010>

BRASIL. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme. Brasília: Ministério da Saúde, 2025.

BUCHANAN, G. et al. Severe sickle cell disease – pathophysiology and therapy. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, New York, v. 16, n. 1, p. 64–67, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.10.001>

CAHILL, S. P. et al. Evaluation of patient-reported safety and efficacy of cannabis from a survey of medical cannabis patients in Canada. *Frontiers in Public Health*, Lausanne, v. 9, 626853, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.626853>

CASTRO, O. L., et al. Iron restriction in sickle cell disease: When less is more. *American journal of hematology*. Vol. 99, n. 7, p. 1349–1359, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajh.27267>

CONRAN, N., & BELCHER, J. D. Inflammation in sickle cell disease. *Clinical hemorheology and microcirculation*, Vol. 68, n. 2-3, p. 263–299, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3233/CH-189012>

COVEY, T. M., EDES, K., & FITZPATRICK, F. A. Akt activation by arachidonic acid metabolism occurs via oxidation and inactivation of PTEN tumor suppressor. *Oncogene*, Vol. 26, n. 39, P. 5784–5792, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210391>

DE LIGHT, L. A., et al. Neutrophils in sickle cell disease: Exploring their potential role as a therapeutic target. *American journal of hematology*, vol. 99, n. 6, p. 1119–1128, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajh.27224>

DORNELES, J., DE MENEZES MAYER, A., & CHIES, J. A. B. Sickle Cell Anemia and Inflammation: A Review of Stones and Landmarks Paving the Road in the Last 25 Years. *Hematology reports*, vol. 17, n. 1, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/hematolrep17010002>

DRASAR, E. et al. Blood transfusion usage among adults with sickle cell disease – a single institution experience over ten years. *British Journal of Haematology*, Oxford, v. 152, n. 6, p. 766–770, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08451.x>

ELENDU, C. et al. Understanding sickle cell disease: causes, symptoms, and treatment options. *Medicine*, Baltimore, v. 102, n. 38, e33613, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000035237>

ENGELMAN, J. A., LUO, J., & CANTLEY, L. C. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nature reviews. Genetics*, 7(8), 606–619, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg1879>

FERHAT, M. H. et al. The impact of invariant NKT cells in sterile inflammation: the possible contribution of the alarmin/cytokine IL-33. *Frontiers in Immunology*, Lausanne, v. 9, n. 2308, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02308>

FERTRIN, K. Y.; COSTA, F. F. Genomic polymorphisms in sickle cell disease: implications for clinical diversity and treatment. *Expert Review of Hematology*, London, v. 3, n. 4, p. 443–458, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1586/ehm.10.44>

FEUGRAY, G., et al. Lactate dehydrogenase and hemolysis index to predict vaso-occlusive crisis in sickle cell disease. *Scientific reports*, vol. 13, n. 1, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48324-w>

FINN, D. P. et al. Cannabinoids, the endocannabinoid system, and pain: a review of preclinical studies. *Pain*, Philadelphia, v. 162, n. 1, p. S5–S25, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002268>

FLEURY-TEIXEIRA, P. et al. Effects of CBD-enriched *Cannabis sativa* extract on autism spectrum disorder symptoms: an observational study of 18 participants undergoing compassionate use. *Frontiers in Neurology*, Lausanne, v. 10, n. 1145, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01145>

FOGLIAZZA, F., et al. Chronic Hydroxyurea Therapy in Children with Sickle Cell Anemia: Mechanisms of Action, Systemic Effects, and Long-Term Safety. *Journal of clinical medicine*, vol. 14, n. 23, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm14238599>

FUCHAROEN, S.; WEATHERALL, D. J. The hemoglobin E thalassemias. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, Cold Spring Harbor, v. 2, n. 8, a011734, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011734>

GLADWIN, M. T. et al. Nitric oxide for inhalation in the acute treatment of sickle cell pain crisis: a randomized controlled trial. *JAMA*, Chicago, v. 305, n. 9, p. 893–902, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2011.235>

GREEN, N. S.; BARRAL, S. Emerging science of hydroxyurea therapy for pediatric sickle cell disease. *Pediatric Research*, New York, v. 75, n. 1–2, p. 196–204, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/pr.2013.227>

GUINDO, A., et al. Analysis of Iron Status in Sickle Cell Disease Patients During Steady State at the Center de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose (CRLD) Bamako. *Hemoglobin*. Vol. 48, n. 5, p. 314–318, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1080/03630269.2024.2419889>

GURMU, M. Z., et al. Neutrophil-lymphocyte ratio as an inflammatory biomarker of diabetic nephropathy among type 2 diabetes mellitus patients: A comparative cross-sectional study. *SAGE open medicine*, vol. 10, n. 20503121221140231, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1177/20503121221140231>

HAWKINS, P. T., & STEPHENS, L. R. PI3K signalling in inflammation. *Biochimica et biophysica acta*, vol. 1851, n. 6, p. 882–8971, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2014.12.006>

HE, Y. et al. Targeting PI3K/Akt signal transduction for cancer therapy. *Signal Transduction and Target Therapy*. Vol. 6, n. 425, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00828-5>

HEBBEL, R. P.; BELCHER, J. D.; VERCELLOTTI, G. M. The multifaceted role of ischemia/reperfusion in sickle cell anemia. *The Journal of Clinical Investigation*, Chicago, v. 130, n. 3, p. 1062–1072, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI133639>

HILL, K. P. et al. Cannabis and pain: a clinical review. *Cannabis and Cannabinoid Research*, New Rochelle, v. 2, n. 1, p. 96–104, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1089/can.2017.0017>

HOPPE, C. C. Inflammatory mediators of endothelial injury in sickle cell disease. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, Philadelphia, v. 28, n. 2, p. 265–286, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2013.11.006>

HOWARD, J. et al. Cannabis use in sickle cell disease: a questionnaire study. *British Journal of Haematology*, Oxford, v. 131, p. 123–128, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05723.x>

HSIEH, M. M. et al. Nonmyeloablative HLA-matched sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for severe sickle cell phenotype. *JAMA*, Chicago, v. 312, n. 1, p. 48–56, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2014.7192>

HU, T., et al. Metabolic regulation of the immune system in health and diseases: mechanisms and interventions. *Signal transduction and targeted therapy*, vol. 9, n. 1, p. 268, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01954-6>

- INUSA, B. P. D. et al. Sick cell disease – genetics, pathophysiology, clinical presentation and treatment. *International Journal of Neonatal Screening*, Basel, v. 5, n. 2, p. 20, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijns5020020>
- JOSEPH, J. J.; ABRAHAM, A. A.; FITZHUGH, C. D. When there is no match, the game is not over: alternative donor options for hematopoietic stem cell transplantation in sickle cell disease. *Seminars in Hematology*, Philadelphia, v. 55, n. 2, p. 94–101, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2018.04.013>
- KARNA, B.; JHA, S. K.; ZAABI, E. A. Doença da hemoglobina C. *Ilha do Tesouro (FL): StatPearls Publishing*, 29 maio 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559043/>
- KASSIM, A. A. et al. Haploidentical bone marrow transplantation for sickle cell disease. *NEJM Evidence*, Boston, v. 4, n. 3, 25 fev. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1056/EVIDoa2400192>
- KATO, G. J., et al. Sick cell disease. *Nature reviews. Disease primers*, vol. 4, n. 18010, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.10>
- KAUL, D. K.; FINNEGAN, E.; BARABINO, G. A. Sick red cell-endothelium interactions. *Microcirculation*, Malden, v. 16, n. 1, p. 97–111, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1080/10739680802279394>
- KENDALL, D. A., & YUDOWSKI, G. A. Cannabinoid Receptors in the Central Nervous System: Their Signaling and Roles in Disease. *Frontiers in cellular neuroscience*, vol. 10, n. 294, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00294>
- KHARGEKAR, N. et al. Role of hydroxyurea therapy in the prevention of organ damage in sickle cell disease: a systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews*, London, v. 13, n. 60, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13643-024-02461-z>
- KOPUSTINSKIENE, D. M. et al. *Cannabis sativa* L. bioactive compounds and their protective role in oxidative stress and inflammation. *Antioxidants*, Basel, v. 11, n. 4, p. 660, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11040660>
- LEUTI, A. et al. Bioactive lipids, inflammation and chronic diseases. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Amsterdam, v. 159, p. 133–169, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.06.028>
- LEVY, B. D. et al. Lipid mediator class switching during acute inflammation: signals in resolution. *Nature Immunology*, London, v. 2, p. 612–619, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1038/89759>
- LIBRA, M. et al. Uterine cervical carcinoma: role of matrix metalloproteinases (review). *International Journal of Oncology*, Athens, v. 34, n. 4, p. 897–903, 2009. DOI: https://doi.org/10.3892/ijo_00000215
- LIU, A., et al. Plasma free hemoglobin is associated with LDH, AST, total bilirubin, reticulocyte count, and the hemolysis score in patients with sickle cell anemia. *Annals*

of hematology, Vol. 104, n. 4, p. 2221–2228, 2025. DOI:
<https://doi.org/10.1007/s00277-025-06253-w>

LIU, K., et al. Curcumin modulates the PTEN/PI3K/AKT pathway to alleviate inflammation and oxidative stress in PM2.5-Induced chronic obstructive pulmonary disease. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, Vol. 201. 2025. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2025.115460>

LÓPEZ RUBIO, M.; ARGÜELLO MARINA, M. The current role of hydroxyurea in the treatment of sickle cell anemia. *Journal of Clinical Medicine*, Basel, v. 13, n. 21, p. 6404, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm13216404>

LU, H. C., & Mackie, K. An Introduction to the Endogenous Cannabinoid System. *Biological psychiatry*, Vol. 79, n. 7, p. 516–525, 2016. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.07.028>

MA, L. et al. CRISPR/Cas9-based gene-editing technology for sickle cell disease. *Gene*, Amsterdam, v. 874, p. 147480, 2023. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.147480>

MACK, A. K.; KATO, G. J. Sickle cell disease and nitric oxide: a paradigm shift? *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, Amsterdam, v. 38, n. 8, p. 1237–1243, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.01.010>

MAHARAJ, S., & CHANG, S. Clinical Utility of Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Sickle Cell Disease With Vaso-Occlusive Crisis. *Hematology/oncology and stem cell therapy*, vol. 16, n. 1, p. 79–82, 2023. DOI: <https://doi.org/10.56875/2589-0646.1046>

MANWANI, D.; FRENETTE, P. S. Vaso-occlusion in sickle cell disease: pathophysiology and novel targeted therapies. *Blood*, Washington, v. 122, n. 24, p. 3892–3898, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2013-05-498311>

MARTÍN-VÁZQUEZ, E. et al. The PTGS2/COX2-PGE2 signaling cascade in inflammation: pro or anti? A case study with type 1 diabetes mellitus. *International Journal of Biological Sciences*, Wuhan, v. 19, n. 13, p. 4157–4165, 2023. DOI:
<https://doi.org/10.7150/ijbs.86492>

MÁZLÓ, A. et al. Types of necroinflammation: the effect of cell death modalities on sterile inflammation. *Cell Death & Disease*, London, v. 13, n. 423, 2022. DOI:
<https://doi.org/10.1038/s41419-022-04883-w>

McGANN, P. T.; WARE, R. E. Hydroxyurea therapy for sickle cell anemia. *Expert Opinion on Drug Safety*, London, v. 14, n. 11, p. 1749–1758, 2015. DOI:
<https://doi.org/10.1517/14740338.2015.1088827>

MEI, P., et al. Downregulation of Serum PTEN Expression in Mercury-Exposed Population and PI3K/AKT Pathway-Induced Inflammation. *Biomedical and environmental sciences: BES*, Vol. 37, n. 4, P. 354–366, 2024. DOI:
<https://doi.org/10.3967/bes2024.040>

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, Oxford, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE. *The health effects of cannabis and cannabinoids: the current state of evidence and recommendations for research*. Washington, DC: The National Academies Press, 2017. DOI: <https://doi.org/10.17226/24625>

OKKENHAUG K. Signaling by the phosphoinositide 3-kinase family in immune cells. Annual review of immunology, vol. 31, p. 675–704, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-095946>

OKUMURA, J. V. et al. Atypical β -S haplotypes: classification and genetic modulation in patients with sickle cell anemia. *Journal of Human Genetics*, Tokyo, v. 64, p. 239–248, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s10038-018-0554-4>

OPENAI. ChatGPT (Versão 4o). [Inteligência Artificial]. Disponível em: openai.com. Acesso em: 2 jul. 2026.

PANDEY, S., et al. Molecular characterization of hemoglobin D Punjab traits and clinical-hematological profile of the patients. *Sao Paulo medical journal = Revista paulista de medicina*, vol. 130, n. 4, p. 248–251, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1516-31802012000400008>

PEDROSA, A. M.; LEAL, L. K. A. M.; LEMES, R. P. G. Effects of hydroxyurea on cytotoxicity, inflammation and oxidative stress markers in neutrophils of patients with sickle cell anemia: dose-effect relationship. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 468–475, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.07.011>

PLATT, O. S. et al. Pain in sickle cell disease. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 325, n. 1, p. 11–16, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJM199107043250103>

PRETZSCH, C. M. et al. The effect of cannabidiol (CBD) on low-frequency activity and functional connectivity in the brain of adults with and without autism spectrum disorder (ASD). *Journal of Psychopharmacology*, London, v. 33, n. 9, p. 1141–1148, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1177/0269881119858306>

QUEIROZ, R. F.; LIMA, E. S. Oxidative stress in sickle cell disease. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 16–17, 2013. DOI: <https://doi.org/10.5581/1516-8484.20130008>

QUINN, C. T., & WARE, R. E. The modern use of hydroxyurea for children with sickle cell anemia. *Haematologica*, Vol. 110, n. 5, P. 1061–1073, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3324/haematol.2023.284633>

RASQUEL-OLIVEIRA, F. S. et al. Specialized pro-resolving lipid mediators: endogenous roles and pharmacological activities in infections. *Molecules*, Basel, v. 28, p. 5032, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28135032>

REES, D. C.; BROUSSE, V. A. M.; BREWIN, J. N. Determinants of severity in sickle cell disease. *Blood Reviews*, London, article 100983, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.blre.2022.100983>

REPARAZ, P. et al. Clinical management of the acute complications of sickle cell anemia: 11 years of experience in a tertiary hospital. *Anales de Pediatría*, Barcelona, v. 97, n. 1, p. 4–11, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anpede.2022.06.002>

ROSENFELD, L. G. et al. Prevalência de hemoglobinopatias na população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde 2014–2015. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, São Paulo, v. 22, supl. 2, p. e190007.SUPL.2, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1980-549720190007.supl.2>

RUSSEL, M. O. et al. Effect of transfusion therapy on arteriographic abnormalities and on recurrence of stroke in sickle cell disease. *Blood*, Washington, v. 63, n. 1, p. 162–169, 1984.

SADIQ, I. Z. et al. (2024). Thalassemia: Pathophysiology, Diagnosis, and Advances in Treatment. *Thalassemia Reports*, v. 14, n. 4, p. 81-102, 2024. <https://doi.org/10.3390/thalassrep14040010>

SALABERRY, C. A.; ASTERN, L. The endocannabinoid system, our universal regulator. *Journal of Young Investigators*, v. 34, n. 6, p. 48–55, 2018. DOI: [10.22186/jyi.34.5.48-55](https://doi.org/10.22186/jyi.34.5.48-55)

SANKARAN, V. G.; ORKIN, S. H. The switch from fetal to adult hemoglobin. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, Cold Spring Harbor, v. 3, n. 1, a011643, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011643>

SANSAL, I., SELLERS, W. R. The biology and clinical relevance of the PTEN tumor suppressor pathway. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, V. 22, n. 14, P. 2954–2963, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.02.141>

SCHAEUBLE, K. et al. Attenuation of chronic antiviral T-cell responses through constitutive COX2-dependent prostanoid synthesis by lymph node fibroblasts. *PLoS Biology*, San Francisco, v. 17, n. 7, p. e3000072, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000072>

SCHOTTEN, L. M. et al. DNA methylation of PTGER4 in peripheral blood plasma helps to distinguish between lung cancer, benign pulmonary nodules and chronic obstructive pulmonary disease patients. *European Journal of Cancer*, Oxford, v. 147, p. 142–150, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2021.01.032>

SHAMOON, M., et al. Unraveling Hemoglobin D's Influence: A Comprehensive Analysis of Clinicopathological Parameters in Hemoglobin D Patients. *Hemoglobin*, vol. 49, n. 3, p. 195–199, 2025. <https://doi.org/10.1080/03630269.2025.2510442>

SHEN, H.; KREISEL, D.; GOLDSTEIN, D. R. Processes of sterile inflammation. *The Journal of Immunology*, Baltimore, v. 191, p. 2857–2863, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301539>

SILVA, M.; FAUSTINO, P. From stress to sick(le) and back again – oxidative/antioxidant mechanisms, genetic modulation, and cerebrovascular disease in children with sickle cell anemia. *Antioxidants*, Basel, v. 12, n. 11, p. 1977, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12111977>

SINHA, C. B. et al. Management of chronic pain in adults living with sickle cell disease in the era of opioid epidemic. *JAMA*, Chicago, v. 2, n. 5, e194410, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.4410>

STEINBERG, M. H. et al. Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. *JAMA*, Chicago, v. 289, n. 13, p. 1645–1651, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.289.13.1645>

STEINBERG, M. H. et al. The risks and benefits of long-term use of hydroxyurea in sickle cell anemia: a 17.5-year follow-up. *American Journal of Hematology*, Hoboken, v. 85, n. 6, p. 403–408, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajh.21699>

STEINBERG, M. H.; KUMAR, S.; MURPHY, G. J.; VANUYTSEL, K. Sickle cell disease in the era of precision medicine: looking to the future. *Expert Review of Precision Medicine and Drug Development*, London, v. 4, n. 6, p. 357–367, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/23808993.2019.1688658>

STELLA, B. et al. Cannabinoid formulations and delivery systems: current and future options to treat pain. *Drugs*, Basel, v. 81, n. 13, p. 1513–1557, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01579-x>

STROUSE, J. J., & HEENEY, M. M. Hydroxyurea for the treatment of sickle cell disease: efficacy, barriers, toxicity, and management in children. i, vol. 59, n. 2, p. 365–371, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/pbc.24178>

SUNDD, P.; GLADWIN, M. T.; NOVELLI, E. M. Pathophysiology of sickle cell disease. *Annual Review of Pathology*, Palo Alto, v. 14, p. 263–292, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012838>

TAJDARI, M. et al. Dual COX-2/TNF- α inhibitors as promising anti-inflammatory and cancer chemopreventive agents: a review. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, Tehran, v. 23, n. 1, e151312, 2024. DOI: <https://doi.org/10.5812/ijpr-151312>

TAKAOKA, K. et al. Mechanisms of pain in sickle cell disease. *British Journal of Pain*, London, v. 15, n. 2, p. 213–220, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1177/2049463720920682>

TEBBI, C. K. Sickle cell disease: a review. *Hemato*, Basel, v. 3, n. 2, p. 341–366, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/hemato3020024>

TELEN, M. J.; MALIK, P.; VERCELLOTTI, G. M. Therapeutic strategies for sickle cell disease: towards a multi-agent approach. *Nature Reviews Drug Discovery*, London, v. 18, n. 2, p. 139–158, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41573-018-0003-2>

- TORRES, L. S. et al. Inflammation in sickle cell disease: differential and down-expressed plasma levels of Annexin A1 protein. *PLoS ONE*, San Francisco, v. 12, n. 2, e0170958, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165833>
- TOZZATTO-MAIO, K. et al. Inflammatory pathways and anti-inflammatory therapies in sickle cell disease. *HemaSphere*, v. 8, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/hem3.70032>
- TSAI, P. J., et al. PTEN acts as a crucial inflammatory checkpoint controlling TLR9/IL-6 axis in B cells. *iScience*. Vol. 27, n. 7, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110388>
- VAN BEERS, E. J.; VAN WIJK, R. Oxidative stress in sickle cell disease: more than a DAMP squib. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, Amsterdam, v. 68, n. 2–3, p. 239–250, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3233/CH-189010>
- VANHAESEBROECK, B. et al. The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 11(5), 329–341, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm2882>
- VOGEL, S. et al. The platelet NLRP3 inflammasome is upregulated in sickle cell disease via HMGB1/TLR4 and Bruton tyrosine kinase. *Blood Advances*, Washington, v. 2, n. 20, p. 2672–2680, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2018021709>
- VONA, R. et al. Sickle cell disease: role of oxidative stress and antioxidant therapy. *Antioxidants*, Basel, v. 10, n. 2, p. 296, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10020296>
- WALTERS, M. C. et al. Impact of bone marrow transplantation for symptomatic sickle cell disease: an interim report. *Blood*, Washington, v. 95, n. 6, p. 1918–1924, 2000.
- WARE, R. E. How I use hydroxyurea to treat young patients with sickle cell anemia. *Blood*, Washington, v. 115, n. 26, p. 5300–5311, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2009-04-146852>
- WIDGEROW, A. D. Cellular resolution of inflammation—catabasis. *Wound Repair and Regeneration*, Hoboken, v. 20, p. 2–7, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2011.00754.x>
- WILD, B. J.; BAIN, B. J. Investigation of variant haemoglobins and thalassaemia. In: BAIN, B. J.; BATES, I.; LAFFAN, M. A. *Dacie and Lewis Practical Haematology*. 12. ed. London: Elsevier, 2017. p. 282–311. DOI: 10.1016/B978-0-7020-6696-2.00014-X
- WILLIAMS, T. N.; THEIN, S. L. Sickle cell anemia and its phenotypes. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, Palo Alto, v. 19, p. 113–147, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083117-021320>
- XIA, T. et al. Advances in the study of macrophage polarization in inflammatory immune skin diseases. *Journal of inflammation (London, England)*, Vol. 20, n. 33, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12950-023-00360-z>

XU, J. Z.; THEIN, S. L. Revisiting anemia in sickle cell disease and finding the balance with therapeutic approaches. *Blood*, Washington, v. 139, n. 20, p. 3030–3039, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.2021013873>

YANG, J., et al. Inhibition of PI3K-AKT Signaling Blocks PGE₂-Induced COX-2 Expression in Lung Adenocarcinoma. *OncoTargets and therapy*, V. 13, P. 8197–8208, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2147/OTT.S263977>

ZAHRAN, A. M., et al. Effect of Hydroxyurea Treatment on the Inflammatory Markers Among Children With Sickle Cell Disease. Clinical and applied thrombosis/hemostasis. *Official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, vol. 26, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1177/1076029619895111>

ZAIACHUK, M. et al. The anti-inflammatory effects of *Cannabis sativa* extracts on LPS-induced cytokines release in human macrophages. *Molecules*, Basel, v. 28, n. 13, p. 4991, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28134991>

ZENG, L. et al. Values and preferences towards medical cannabis among people living with chronic pain: a mixed-methods systematic review. *BMJ Open*, London, v. 11, n. 9, e044710, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-050831>

ZHANG, D. et al. Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. *Blood*, Washington, v. 127, n. 7, p. 801–809, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2015-09-618538>.

ZHANG, M. W.; HO, R. C. The cannabis dilemma: a review of its associated risks and clinical efficacy. *Journal of Addiction*, London, v. 2015, Article ID 707596, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/707596>.

ZMIGRODZKA, M. et al. The cyclooxygenase-2/prostaglandin E₂ pathway and its role in the pathogenesis of human and dog hematological malignancies. *Journal of Physiology and Pharmacology*, Cracovia, v. 69, n. 5, 2018. DOI: <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.5.01>

ZURIER, R. B., & BURSTEIN, S. H. Cannabinoids, inflammation, and fibrosis. FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. Vol. 30, n. 11, p. 3682–3689, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.201600646R>