



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA
E BIOLOGIA MOLECULAR

GABRIELA DA SILVA ARCANJO

**ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE RETICULÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM
ANEMIA FALCIFORME COM PERFIS DE HEMOGLOBINA FETAL BASAL ALTA
E BAIXA**

Recife
2025

GABRIELA DA SILVA ARCANJO

**ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE RETICULÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM
ANEMIA FALCIFORME COM PERFIS DE HEMOGLOBINA FETAL BASAL ALTA
E BAIXA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor(a) em Genética e Biologia Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Roberto Lucena de Araujo

Coorientador: Dr. Igor de Farias Domingos

Recife

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Arcanjo, Gabriela da Silva.

Análise do transcriptoma de reticulócitos de indivíduos com anemia falciforme com perfis de hemoglobina fetal basal alta e baixa / Gabriela da Silva Arcanjo. - Recife, 2025.

184f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, 2025.

Orientação: Marcos André Cavalcanti Bezerra.

Coorientação: Antonio Roberto Lucena de Araujo.

Coorientação: Igor de Farias Domingos.

Inclui referências e anexos.

1. BCL11A; 2. Doença falciforme; 3. Gama globina; 4. HBS1L-MYB; 5. RNA-seq. I. Bezerra, Marcos André Cavalcanti. II. Araujo, Antonio Roberto Lucena de. III. Domingos, Igor de Farias. IV. Título.

UFPE-Biblioteca Central

GABRIELA DA SILVA ARCANJO

**ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE RETICULÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM
ANEMIA FALCIFORME COM PERFIS DE HEMOGLOBINA FETAL BASAL ALTA
E BAIXA**

Área de Concentração: Genética Humana

Aprovado em 25/02/2025

Banca Examinadora

Prof. Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Rafael Lima Guimarães
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Edis Belini Junior
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa
Universidade Estadual de Campinas

Dr. Luydson Richardson Silva Vasconcelos
Instituto Aggeu Magalhães

Recife
2025

Dedico os meus pais, cujo amor,
dedicação e apoio tornaram possível
cada conquista da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Pernambuco, que foi minha casa nos últimos 12 anos, e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, pela oportunidade de crescimento profissional e científico.

Ao CNPq e à FACEPE, pelo apoio financeiro fornecido para a realização deste trabalho.

Ao HEMOPE e seus funcionários, pelo suporte e infraestrutura disponibilizados, e aos pacientes com anemia falciforme atendidos por essa instituição, que voluntariamente se dispuseram a participar desta pesquisa. Agradeço, em especial, a toda equipe técnica de coleta, ao laboratório, ao setor de prontuários e ao corpo médico, cujo apoio foi essencial para a realização de cada etapa envolvendo o contato com os pacientes.

À equipe do Laboratório de Bioquímica e Genética Aplicada da Universidade Federal de São Carlos, por me receberem tão bem e contribuírem para a realização dos experimentos e análises de sequenciamento. Ao Instituto Keizo Asami e à Fiocruz Pernambuco, pela estrutura e apoio técnico fundamentais para a condução deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos André, por toda a confiança depositada em mim, pelo conhecimento compartilhado, pela amizade construída ao longo dessa trajetória e por todas as oportunidades que contribuíram para minha formação profissional.

Aos meus coorientadores, Dr. Igor Domingos e Dr. Antônio Roberto, pelo suporte técnico e científico, pelos ensinamentos que foram fundamentais para a realização deste e de outros trabalhos, e, sobretudo, pela amizade. Agradeço em especial ao Dr. Diego Martins, que foi essencial para minha formação em tantos momentos, e que continua, com sua inteligência e generosidade, contribuindo com nosso grupo de pesquisa sempre que precisamos.

Aos professores que compõem a banca avaliadora, pelo aceite e pelas valiosas contribuições e sugestões.

A todos os membros do Núcleo de Hematologia Clínica e Laboratorial, pelo suporte técnico e pela amizade diária. Agradeço aos colegas atuais e aos que já passaram pelo nosso grupo de pesquisa em anemia falciforme, pelas trocas de

conhecimento e pela cooperação que fortalece o crescimento do grupo. Agradeço em especial aos meus grandes amigos Alexsandro e Madi, que são pessoas extremamente dedicadas, solícitas e generosas comigo, e que foram grandes pilares para a realização deste trabalho.

A todos os alunos que tive a oportunidade de ensinar e orientar, pois cada um contribuiu para moldar minha experiência e confiança. Aos professores, pesquisadores e estudantes com quem colaborei ao longo da pós-graduação, e que enriqueceram meu amadurecimento científico.

Aos meus grandes amigos, Rodrigo e Thaís, pelo apoio incondicional, pela parceria científica, risadas e momentos únicos compartilhados. A Werbson, que esteve ao meu lado dentro e fora da pós-graduação e acompanhou cada etapa da construção desta tese;

Aos meus pais, por todo apoio, dedicação e sacrifício investidos em mim, e por sempre sonharem e realizarem meus sonhos junto comigo, independentemente dos desafios.

A todos aqueles que conheci fora da pós-graduação e que sempre me acompanharam nessa jornada. Um agradecimento especial aos meus amigos do Hospital Correia Picanço, aos amigos da graduação e às minhas grandes amigas do ensino médio.

Por fim, a todos aqueles que, apesar de não estarem aqui listados, contribuíram para minha formação profissional, seja dentro da universidade ou fora dela.

“O conhecido é finito, o desconhecido, infinito; intelectualmente estamos numa ilhota no meio de um oceano ilimitado de inexplicabilidade. Nossa função em cada geração é reivindicar um pouco mais de terra firme.”

(T. H. Huxley, 1887)

RESUMO

Indivíduos com anemia falciforme (AF) apresentam significativa heterogeneidade clínica atribuída a diversos fatores, especialmente os níveis de hemoglobina fetal (Hb F). Níveis elevados de Hb F têm sido associados a um curso clínico mais brando na AF. Dada a importância da Hb F na fisiopatologia da doença, numerosos estudos têm se concentrado em descrever como a Hb F melhora o fenótipo clínico e em identificar moduladores genéticos que influenciam a Hb F ainda não caracterizados. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a associação de polimorfismos genéticos com os níveis de Hb F e com o fenótipo clínico da AF, além de investigar o perfil transcriptômico de reticulócitos de indivíduos com AF apresentando níveis basais de Hb F altos e baixos. Para isso, foi realizada a genotipagem de variantes nos genes *BCL11A* (rs4671393, rs1427407, rs11886868) e *HBS1L-MYB* (rs9399137) em 409 pacientes adultos com AF. Adicionalmente, foi conduzido o sequenciamento de RNA (RNA-seq) de reticulócitos de oito pacientes com AF — quatro com Hb F basal alta (mediana: 20,5%) e quatro com Hb F basal baixa (mediana: 4,1%). Os resultados mostraram que os alelos variantes dos polimorfismos em *BCL11A* e *HBS1L-MYB* estão significativamente associados a níveis elevados de Hb F, sendo a variante *HBS1L-MYB* rs9399137 a que demonstrou o efeito mais expressivo, explicando 14,9% da variância nos níveis de Hb F ($p < 0,001$). Análises de regressão indicaram que os genótipos ancestrais dessas variantes estavam associados a maior risco e maior incidência cumulativa de complicações da AF, incluindo acidente vascular cerebral, osteonecrose, úlceras de perna, priapismo e síndrome torácica aguda. Um escore de risco genético, refletindo o efeito combinado dos alelos ancestrais, mostrou associação significativa com níveis mais baixos de Hb F ($p < 0,001$) e maior risco de complicações clínicas ($p < 0,001$), indicando que cada alelo de risco adicional contribui para o agravamento do quadro clínico. Nas análises de RNA-seq, foram identificados 89 genes e 168 transcritos diferencialmente expressos entre os grupos. A anotação funcional revelou que níveis elevados de Hb F estão associados à expressão de genes e transcritos envolvidos em diversos processos biológicos, como organização do citoesqueleto, equilíbrio redox, apoptose, transdução de sinais intracelulares e expressão de RNA. O perfil de expressão dos pacientes com Hb F elevada sugere melhora na reologia celular, estabilização do citoesqueleto e redução da geração de espécies reativas de oxigênio. Além disso, a via de sinalização Wnt/ β -catenina pode estar ativada nesses pacientes, contribuindo para parâmetros celulares mais favoráveis. Por fim, observou-se a expressão reduzida do transcrito do gene *KDM1A*, um regulador epigenético previamente implicado na hematopoiese, o que reforça seu papel na repressão da gama-globina. Assim, a identificação de variantes genéticas associadas à expressão de Hb F e ao risco de complicações contribui para o entendimento da heterogeneidade fenotípica da doença e pode orientar estratégias de estratificação de risco e intervenções personalizadas. Além disso, a análise transcriptômica destaca vias moleculares potencialmente envolvidas nos efeitos protetores da Hb F elevada, abrindo novas perspectivas para alvos terapêuticos.

Palavras-chave: BCL11A; Doença falciforme; Gama globina; *HBS1L-MYB*; RNA-seq

ABSTRACT

Individuals with sickle cell anemia (SCA) exhibit significant clinical heterogeneity attributed to various factors, especially the levels of fetal hemoglobin (Hb F). Elevated levels of Hb F have been associated with a milder clinical course in SCA. Given the importance of Hb F in the disease's pathophysiology, numerous studies have focused on describing how Hb F ameliorates the clinical phenotype and identifying uncharacterized genetic modulators that influence Hb F levels. Therefore, the aim of this study was to evaluate the association between genetic polymorphisms and both Hb F levels and the clinical phenotype of SCA, as well as to investigate the transcriptomic profile of reticulocytes from individuals with SCA presenting high and low basal Hb F levels. Genotyping was performed for variants in the *BCL11A* (rs4671393, rs1427407, rs11886868) and *HBS1L-MYB* (rs9399137) genes in 409 adult patients with SCA. In addition, RNA sequencing (RNA-seq) of reticulocytes was conducted in eight patients — four with high basal Hb F levels (median: 20.5%) and four with low basal Hb F levels (median: 4.1%). The results showed that the variant alleles of the polymorphisms in *BCL11A* and *HBS1L-MYB* were significantly associated with elevated Hb F levels, with *HBS1L-MYB* rs9399137 showing the most pronounced effect, explaining 14.9% of the variance in Hb F levels ($p < 0.001$). Regression analyses indicated that the ancestral genotypes of these variants were associated with an increased risk and cumulative incidence of SCA-related complications, including stroke, osteonecrosis, leg ulcers, priapism, and acute chest syndrome. A genetic risk score, reflecting the combined effect of ancestral alleles, was significantly associated with lower Hb F levels ($p < 0.001$) and a higher risk of clinical complications ($p < 0.001$), indicating that each additional risk allele contributes to increased disease severity. RNA-seq analyses identified 89 differentially expressed genes and 168 transcripts between the groups. Functional annotation revealed that elevated Hb F levels were associated with the expression of genes and transcripts involved in various biological processes, such as cytoskeleton organization, redox balance, apoptosis, intracellular signal transduction, and RNA expression. The expression profile of patients with high Hb F levels suggests improved cell rheology, cytoskeleton stabilization, and reduced generation of reactive oxygen species. Furthermore, the Wnt/ β -catenin signaling pathway may be activated in these patients, contributing to more favorable cellular parameters. Finally, reduced expression of the *KDM1A* transcript, an epigenetic regulator previously implicated in hematopoiesis, was observed in patients with elevated Hb F, supporting its role in gamma-globin repression. Thus, the identification of genetic variants associated with Hb F expression and clinical complications enhances the understanding of the phenotypic heterogeneity of the disease and may guide risk stratification strategies and personalized interventions. Additionally, the transcriptomic analysis highlights molecular pathways potentially involved in the protective effects of elevated Hb F, opening new avenues for therapeutic targets.

Keywords: *BCL11A*; Sickle cell anemia; Gamma-globin; *HBS1L-MYB*; RNA-seq

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TESE

Figura 1 - Estrutura molecular e gênica da molécula de hemoglobina (Hb).....	23
Figura 2 - Visão geral da estrutura dos clusters da alfa e beta globina humana	24
Figura 3 - Representação da expressão controlada durante as fases de desenvolvimento, dos diferentes tipos de hemoglobinas humanas.....	26
Figura 4 - Modelo simplificado do controle da transcrição dos genes no <i>locus</i> da β -globina nos estágios de desenvolvimento fetal e adulto.. ..	28
Figura 5 - Representação esquemática da regulação da troca da hemoglobina fetal para adulto baseada na interação em <i>looping</i> do LCR e na presença de vários fatores de transcrição.....	32
Figura 6 - Número estimado de nascimentos de indivíduos com DF (genótipos SS e S β 0) por país no ano de 2021.....	37
Figura 7 – Principais eventos envolvidos na fisiopatologia da anemia falciforme	39
Figura 8 - Resumo dos principais eventos que contribuem para a vaso-oclusão na AF	44
Figura 9 - Na AF maiores níveis de hemoglobina fetal (Hb F) são associados a diminuição da polimerização e melhora do quadro clínico.	49
Figura 10 - Efeitos a nível vascular e celular do tratamento com hidroxureia (HU) na anemia falciforme.	53
Figura 11 - Principais variantes genéticas associadas com variações nos níveis de hemoglobina fetal.....	56

ARTIGO 1 – Variantes nos genes *BCL11A* e *HBS1L-MYB* como preditores dos níveis de hemoglobina fetal e da gravidade clínica na anemia falciforme

Figura 1: Associação entre os níveis de hemoglobina fetal (Hb F) e variantes genéticas em <i>BCL11A</i> e <i>HBS1L-MYB</i>	81
Figura 2: <i>Forest plots</i> da análise de regressão proporcional de Cox para preditores genéticos e clínicos de complicações da anemia falciforme (AF).	82
Figura 3: Associação do Escore de Risco Genético (GRS) com os níveis de hemoglobina fetal e complicações clínicas em pacientes com anemia falciforme (AF)	83

Figura suplementar 1: Curvas de incidência cumulativa de Kaplan-Meier para complicações clínicas em pacientes com AF estratificados por variantes genéticas de <i>BCL11A</i> e <i>HBS1L-MYB</i>	90
Figura suplementar 2: Curvas de incidência cumulativa de Kaplan-Meier para complicações clínicas em pacientes com AF estratificados por variantes genéticas <i>BCL11A</i> e <i>HBS1L-MYB</i>	91

ARTIGO 2 – Análise do transcriptoma de reticulócitos de pacientes com anemia falciforme com níveis altos e baixos de hemoglobina fetal

Figura 1: Análise de expressão gênica diferencial de pacientes com AF com altos e baixos níveis basais de Hb F.....	112
Figura 2: Expressão gênica, medida em contagens normalizadas logarítmicas, dos reguladores previamente conhecidos da globina gama (<i>BCL11A</i> , <i>GATA-1</i> , <i>KLF1</i> , <i>cMYB</i> , <i>SOX6</i> e <i>ZBTB7A</i>).	113
Figura 3: Análise de expressão diferencial de transcritos de pacientes com AF com altos e baixos níveis basais de Hb F	115
Figura 4: Diagrama de Venn ilustrando a contagem de genes diferencialmente expressos (DEGs) e genes únicos com transcritos diferencialmente expressos (DETs).	116
Figura 5: Representação dos termos do Gene Ontology (GO) enriquecidos entre todos os genes diferencialmente expressos.	118
Figura 6: Representação dos termos de Gene Ontology (GO) enriquecidos entre os transcritos regulados positivamente.....	120
Figura 7: Representação dos termos de Gene Ontology (GO) enriquecidos entre os transcritos regulados negativamente.....	122
Figura suplementar 1: Gráfico Gene-Concept Network dos genes diferencialmente expressos envolvidos em vias imunes significativamente enriquecidas no Gene Ontology (GO).....	126

LISTA DE TABELAS

TESE

Tabela 1 - Principais reguladores envolvidos na expressão das cadeias globinicas gama e beta.	34
Tabela 2 - Principais complicações clínicas agudas da anemia falciforme.	46
Tabela 3 - Principais complicações clínicas crônicas da anemia falciforme.	47

ARTIGO 1 – Variantes nos genes *BCL11A* e *HBS1L-MYB* como preditores dos níveis de hemoglobina fetal e da gravidade clínica na anemia falciforme

Tabela 1: Características basais dos pacientes com AF de acordo com o estado da doença.	79
Tabela 2: Análise de regressão linear dos polimorfismos de <i>BCL11A</i> e <i>HBS1L-MYB</i> com níveis de HbF de acordo com modelo alélico aditivo.	80
Tabela suplementar 1: Regressão logística binária univariada e multivariada para desenvolvimento de acidente vascular cerebral com base nas variantes genéticas de <i>BCL11A</i> e <i>HBS1L-MYB</i>	84
Tabela suplementar 2: Regressão logística binária univariada e multivariada para desenvolvimento de necrose asséptica de cabeça de fêmur/osteonecrose (NACF) com base nas variantes genéticas de <i>BCL11A</i> e <i>HBS1L-MYB</i>	85
Tabela suplementar 3: Regressão logística binária univariada e multivariada para desenvolvimento de úlcera maleolar (UM) com base nas variantes genéticas <i>BCL11A</i> e <i>HBS1L-MYB</i>	86
Tabela suplementar 4: Regressão logística binária univariada e multivariada para desenvolvimento de priapismo com base nas variantes genéticas <i>BCL11A</i> e <i>HBS1L-MYB</i>	87
Tabela suplementar 5: Regressão logística binária univariada e multivariada para o desenvolvimento da síndrome torácica aguda (STA) com base nas variantes genéticas <i>BCL11A</i> e <i>HBS1L-MYB</i>	88
Tabela suplementar 6: Associação do Escore de Risco Genético (GRS) com complicações clínicas da AF.	89

ARTIGO 2 – Análise do transcriptoma de reticulócitos de pacientes com anemia falciforme com níveis altos e baixos de hemoglobina fetal

Tabela 1: Características laboratoriais, moleculares e clínicas basais dos pacientes com AF incluídos no estudo.	123
Tabela 2: Top 10 genes regulados positivamente e negativamente entre grupos de alta e baixa Hb F.	124
Tabela 3: Top 10 transcritos regulados positivamente e negativamente entre grupos de alta e baixa Hb F.	125
Tabela suplementar 1: Genes regulados positivamente classificados por Log2FoldChange nos grupos de alta Hb F vs baixa Hb F.	128
Tabela suplementar 2: Genes regulados negativamente classificados por Log2FoldChange nos grupos de alta Hb F vs baixa Hb F.	130
Tabela suplementar 3: Transcritos regulados positivamente classificados por Log2FoldChange nos grupos de alta Hb F vs baixa Hb F.	131
Tabela suplementar 4: Transcritos regulados negativamente classificados por Log2FoldChange nos grupos de alta Hb F vs baixa Hb F.	134

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Item	Definição
α	Alfa
$\alpha^{3,7kb}$	Deleção $\alpha^{3,7kb}$
β	Beta
β^S	Cadeia globínica beta com alteração para a formação da Hb S
β -LCR	Região controladora de <i>locus</i> gênico do cluster beta
δ	Delta
ϵ	Épsilon
γ	Gama
ζ	Zeta
2,3 DPG	2,3 difosfoglicerato
AF	Anemia falciforme
ARB	Árabe-indiano
AVC	Acidente vascular cerebral
BCL11A	<i>B-cell CLL/lymphoma 11A</i>
BEN	Benin
BI	Bilirrubina indireta
BT	Bilirrubina total
CAR	República central africana
CAM	Camarões
CVO	Crise vaso-oclusiva
DEGs	Genes diferencialmente expressos
desoxi-Hb	Hb não ligada ao O ₂
DAMPs	Padrões moleculares associados a danos
DF	Doença falciforme
DNMT1	DNA metiltransferase 1
eDAMPS	Padrões moleculares eritróides associados a danos
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético

eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
GpIIIb	Molécula de adesão CD36
GWAS	Estudos de Associação Ampla do Genoma, do inglês, <i>Genome-Wide Association Study</i>
Hb	Hemoglobina
Hb A	Hemoglobina A
Hb AS	Indivíduo traço falciforme
Hb F	Hemoglobina fetal
Hb S	Hemoglobina S
Hb S/ β^0	S/ β^0 talassemia
HBB	Gene da β globina
HBBP	Pseudogene da globina beta
HBD	Globina delta
HBE	Globina embrionária épsilon
HBG	Globina fetal gama
HBQ1	Globina teta de função desconhecida
HBZ	Globina embrionária zeta
HBZP	Pseudogene da globina zeta
HDAC	Histona desacetilase
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HU	Hidroxiuréia
HS	Locais de hipersensibilidade à dnase-I
I/R	Isquemia-reperfusão
ICAM-1	Molécula de adesão intracelular 1
IVSs	Sequências intervenientes
Lu/BCAM	Proteína luterana/molécula de adesão celular basal
KDa	Kilodaltons
KLF1	Fator Krüppel-like 1
LCR	Regiões controladoras de locus gênico
LDH	Lactato desidrogenase
MCS	Sequências conservadas multiespécies
mRNA	RNA mensageiro

NETs	Armadilhas extracelulares de neutrófilos
NF-E4	Fator nuclear eritroide 4
NF-κB	Fator de transcrição nuclear kappa B
NO	Óxido nítrico
O ₂	Oxigênio
oxi-Hb	Hb ligada ao O ₂
PAI -1	Inibidor do ativador de plasminogênio 1
PHHF	Persistência hereditária da hemoglobina fetal
PNTN	Programa Nacional de Triagem Neonatal
PS	Fosfatidilserina
PSGL-1	Ligante da P-selectina
PSR	Receptor específico de fosfatidilserina
QLT	Loci de Características Quantitativas
q	Braço longo do cromossomo
R	Estado relaxado
RBC	Eritrócitos, do inglês, <i>Red blood cells</i>
RFLP	Análise de restrição de fragmento, do inglês, <i>Restriction fragment length polymorphism</i>
RNA-seq	Sequenciamento total do transcriptoma
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SEN	Senegal
SNP	Polimorfismos de nucleotídeo único, do inglês, <i>Single nucleotide polymorphism</i>
SRE	Sistema reticulo endotelial
STA	Síndrome torácica aguda
T	Tenso
TLR4	Receptor Toll-like 4
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular 1
VCM	Volume corpuscular médio
WBC	Leucócitos, do inglês, <i>White blood cells</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 OBJETIVOS.....	21
1.1.1 Objetivo geral.....	21
1.1.2 Objetivos específicos	21
2 REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 A MOLÉCULA DE HEMOGLOBINA	22
2.1.1 Estrutura, função e contexto gênico	22
2.1.2 Ontogenia das hemoglobinas humanas	25
2.1.3 Controle molecular do <i>switch</i> da hemoglobina fetal para adulto	27
2.1.4 Hemoglobinopatias	35
2.2 ANEMIA FALCIFORME	35
2.2.1 Etiologia e epidemiologia	35
2.2.2 Fisiopatologia da anemia falciforme	38
2.2.3 Complicações Clínicas	45
2.3 HEMOGLOBINA FETAL NA ANEMIA FALCIFORME	48
2.3.1 Terapias baseadas na indução da Hb F para tratamento da AF	51
2.3.2 Moduladores genéticos dos níveis de Hb F.....	55
2.3.3 Estudos de sequenciamento do RNA (RNAseq) na anemia falciforme	58
3 ARTIGO 1 – Variantes nos genes <i>BCL11A</i> e <i>HBS1L-MYB</i> como preditores dos níveis de hemoglobina fetal e da gravidade clínica na anemia falciforme.....	60
4 ARTIGO 2 – Análise do transcriptoma de reticulócitos de pacientes com anemia falciforme com níveis altos e baixos de hemoglobina fetal	92
5 DISCUSSÃO GERAL	137
6 CONCLUSÕES	143

REFERÊNCIAS.....	144
CURRÍCULO LATTES DURANTE O VÍNCULO COM O PPGGBM.....	170
ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA UFPE.....	178
ANEXO B – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA HEMOPE.....	179
ANEXO C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	180
ANEXO D – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA <i>BRITISH JOURNAL OF HAEMATOLOGY</i>.....	183

1 INTRODUÇÃO

A anemia falciforme (AF), doença monogênica mais comum no mundo, é causada pela homozigose de uma mutação pontual no gene que codifica a cadeia globínica β (HBB), a qual leva a substituição do ácido glutâmico por valina no 6° códon da cadeia β globínica (HBB; $\beta 6$ GAG→GTG; glu6→val6), resultando na formação de uma hemoglobina anormal, a hemoglobina S (Hb S). Sob baixas concentrações de oxigênio, a Hb S polimeriza, levando a danos estruturais nos eritrócitos, o que desencadeia diversas implicações fisiopatológicas.

Embora seja uma doença monogênica, a AF tem curso clínico heterogêneo variando de quadros com poucas internações e complicações clínicas até quadros clinicamente graves. Um dos moduladores clínicos da AF mais bem estabelecidos na literatura são os níveis de hemoglobina fetal (Hb F). A Hb F é sintetizada no período fetal de desenvolvimento e após o nascimento sua síntese é gradativamente reduzida, até os 24 meses de vida. Em adultos sem hemoglobinopatias, a Hb F representa menos de 1% das hemoglobinas totais, com porcentagem média de 0,4%. Indivíduos com AF e percentuais mais elevados de Hb F apresentam uma clínica mais branda, devido à diminuição da taxa de polimerização da Hb S e, conseqüentemente, da falcização.

Diversos estudos têm demonstrado associação entre variantes em genes relacionados com a produção e regulação da expressão da Hb F, como o BCL11A e HBSL1-MYB, e níveis elevados de Hb F em hemoglobinopatias. Polimorfismos nesses genes estão associados com níveis variados de Hb F na vida adulta, caracterizando uma persistência de Hb F nesses indivíduos. Apesar das associações encontradas, grande parte da variação nos níveis de Hb F ainda permanece pouco esclarecida. Atualmente, o principal fármaco utilizado no tratamento da AF é a hidroxiuréia (HU), droga quimioterápica que tem a capacidade de elevar os níveis de Hb F, melhorando a qualidade de vida dos indivíduos. Mesmo apresentando diversos benefícios, alguns pacientes não respondem ao tratamento e, muitas vezes, as reações adversas se sobrepõem às melhorias e o tratamento é abandonado.

Considerando a importância da Hb F na fisiopatologia da AF, as incertezas que cercam sua síntese e a escassez de fármacos disponíveis para o tratamento da

doença, a realização de pesquisas com o objetivo de elucidar os mecanismos envolvidos na modulação dos níveis de Hb F na vida adulta é de suma importância, dada sua relevância potencial para o tratamento da doença. Neste contexto, estudos prévios já buscaram compreender esses mecanismos por meio de várias abordagens, incluindo a investigação de genes associados com os altos níveis de Hb F em indivíduos com persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF), a análise dos genes diferencialmente expressos (DEGs) em reticulócitos de indivíduos com AF antes e após o tratamento com HU, e a investigação de DEGs em indivíduos com talassemia beta que apresentavam níveis distintos de Hb F. Reticulócitos, são precursores eritroides que circulam no sangue periférico, e ainda expressam diversos genes, incluindo aqueles associados à regulação e síntese da hemoglobina. A metodologia de sequenciamento total do transcriptoma (RNA-seq) é uma abordagem que permite uma avaliação abrangente do perfil transcricional celular, identificando genes diferencialmente expressos e transcritos alternativos de um mesmo gene que possam estar relacionados a desfechos específicos.

Com base nisso, nossa hipótese é que reticulócitos de indivíduos com AF apresentem perfis transcricionais distintos de acordo com os níveis de Hb F, revelando mecanismos moleculares envolvidos na regulação da expressão de Hb F. Além disso, é provável que polimorfismos nos genes *BCL11A* e *HBS1L-MYB* contribuam para níveis elevados de Hb F na AF e atuem como importantes preditores de risco para complicações clínicas da doença. Nesse contexto, o Capítulo 1 desta tese explora a análise de associação de polimorfismos nesses genes com os níveis de Hb F e com as complicações clínicas da AF, enquanto o Capítulo 2 apresenta a análise do transcriptoma de reticulócitos de indivíduos com AF e níveis distintos de Hb F.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Investigar os mecanismos envolvidos na regulação dos níveis de hemoglobina fetal (Hb F) e na modulação clínica da anemia falciforme (AF), por meio da análise da associação de polimorfismos nos genes *BCL11A* e *HBS1L-MYB* e do perfil transcriptômico de reticulócitos de indivíduos com AF, com níveis de Hb F basal alta e baixa.

1.1.2 Objetivos específicos

1. Avaliar a associação dos polimorfismos nos genes *BCL11A* e *HBS1L-MYB* (*rs4671393*, *rs1427407*, *rs11886868*, *rs9399137*) com os níveis de Hb F.
2. Investigar a associação dos polimorfismos de *BCL11A* e *HBS1L-MYB* com o risco e a incidência cumulativa de complicações clínicas da AF;
3. Identificar os genes e transcritos diferencialmente expressos em reticulócitos de pacientes com AF com altos e baixos níveis basais de Hb F, por meio da metodologia de sequenciamento do transcriptoma de reticulócitos;
4. Realizar análise de enriquecimento funcional dos genes diferencialmente expressos para determinar os principais processos biológicos e vias de sinalização associados à regulação da Hb F, a fim compreender o impacto da Hb F no perfil transcricional de reticulócitos e descrever possíveis mecanismos relacionados com a síntese da gama globina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A MOLÉCULA DE HEMOGLOBINA

2.1.1 Estrutura, função e contexto gênico

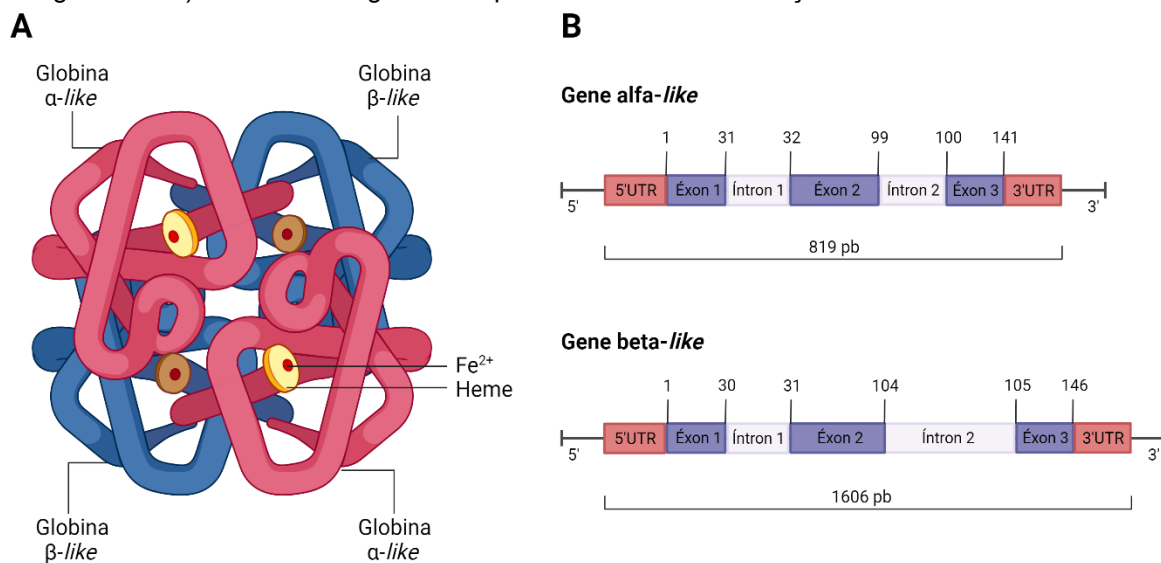
A hemoglobina (Hb) é a proteína intraeritrocitária mais abundante, cuja principal função é a ligação cooperativa ao oxigênio (O₂) e seu transporte dos pulmões para os tecidos (SCHECHTER, 2008). Funcionalmente, o equilíbrio molecular da ligação e liberação do O₂ pela Hb permeia dois estados: o tenso (T) onde a Hb exibe baixa afinidade pelo O₂ (desoxi-Hb) e o estado relaxado (R) onde há alta afinidade da Hb pelo O₂ (oxi-Hb) (AHMED *et al.*, 2020; LUKIN *et al.*, 2003; PERUTZ, 1976).

Em vertebrados, a Hb é um heterotetrâmero com peso molecular aproximado de 64.500 Kilodaltons (KDa), composto por duas subunidades polipeptídicas, ou globinas, relacionadas a subfamília da globina alfa (α) (globina α -like) e duas subunidades polipeptídicas, relacionadas a subfamília da globina beta (β) (globina β -like) (FORGET; HARDISON, 2009). Cada subunidade contém um grupo prostético heme com um átomo de Ferro, o qual estabelece a ligação ao O₂, fazendo com que cada molécula de Hb possa ligar-se a quatro moléculas de O₂ (MAIRBÄURL; WEBER, 2012) (Figura 1A).

As cadeias globínicas do tipo α e β contêm 141 e 146 resíduos de aminoácidos, respectivamente, codificados por genes com uma estrutura geral de 3 éxons e 2 íntrons, ou sequências intervenientes (IVSs), cada. Nos genes relacionados à α globina, as IVSs interrompem a sequência gênica entre os códons 30 e 31 e entre os códons 104 e 105; enquanto nos genes da β globina, as IVSs interrompem a sequência entre os códons 31 e 32 e entre os códons 99 e 100 (COLLINS; WEISSMAN, 1984; FORGET; HARDISON, 2009) (Figura 1B).

As cadeias globínicas α são codificadas por um agrupamento ou *cluster* de genes localizados próximo ao telômero do braço curto do cromossomo 16 (16p13.3, *cluster* α -like), enquanto as cadeias do tipo β são codificadas por genes no braço curto do cromossomo 11 (11p15.4, *cluster* β -like). Os genes de ambos os *clusters* são parálogos, ou seja, são genes homólogos gerados por duplicação genética (HARDISON, 2012).

Figura 1 - Estrutura molecular e gênica da molécula de hemoglobina (Hb). A) Estrutura quaternária da Hb, com duas cadeias alfa (α) *like* e duas cadeias beta (β) *like*, e um grupo heme ligado a cada uma das globinas. B) Estrutura dos genes α e β -*like* mostrando distribuição dos éxons e íntrons.



Fonte: A autora (2024). Criado usando BioRender.com

Quatro dos sete genes α -*like* e cinco dos seis genes da globina β são traduzidos em globinas que compõem proteínas funcionais (HUISMAN, 1993). Os 4 genes adicionais, chamados pseudogenes, foram possivelmente gerados por duplicação gênica e apesar de possuírem estrutura e homologia similares aos genes das globinas, sofreram mutações que os tornam incapazes de codificar uma cadeia globínica funcional (FORGET; HARDISON, 2009).

A estrutura 5'→3' do *cluster* α -*like* inclui o gene da globina embrionária zeta (ζ) (*HBZ*), um pseudogene da globina ζ (*HBZP*), dois pseudogenes da α -globina, *HBAP2* e *HBAP1*, dois genes da α -globina, $\alpha 2$ e $\alpha 1$ (*HBA2* e *HBA1*), e o gene da globina teta (θ) de função desconhecida (*HBQ1*) (Figura 2). O gene da α -globina existe em duas cópias idênticas que originam um mesmo produto proteico, sendo que a globina $\alpha 2$ é expressa 2 a 3 vezes mais quando comparada com a $\alpha 1$, tanto no nível transcricional quanto no nível translacional (PATRINOS; ANTONARAKIS, 2010; VOON; VADOLAS, 2008).

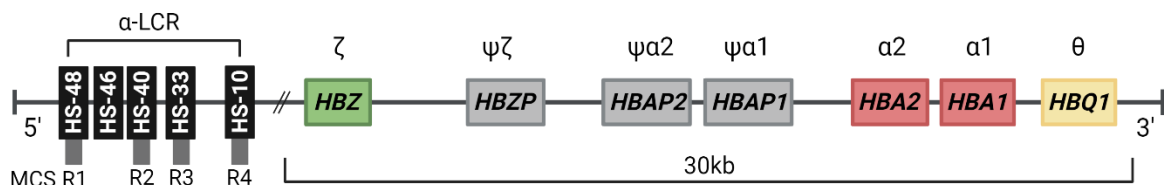
O *cluster* de genes da β -globina consiste no gene da globina embrionária épsilon (ϵ) (*HBE*), dois genes da globina fetal gama (γ), $G\gamma$ (*HBG2*) e $A\gamma$ (*HBG1*), um pseudogene da globina β (*HBBP*), um gene da globina delta (δ) (*HBD*) e um gene da β globina (*HBB*) (FONTANA *et al.*, 2023; PATRINOS; ANTONARAKIS, 2010) (Figura

2). Os genes γ codificam duas cadeias globinicas funcionalmente idênticas que diferem ligeiramente em estrutura, onde o aminoácido 136 da cadeia globinica pode ser alanina (A^γ) ou glicina (G^γ) (PATRINOS; ANTONARAKIS, 2010).

Figura 2 - Visão geral da estrutura dos clusters da alfa e beta globina humana. (A) Representação esquemática dos clusters da α e β -globina localizados nos cromossomos 16 e 11, respectivamente. Os genes da globina do tipo α (*HBZ*, *HBA2*, *HBA1* e *HBQ1*) e do tipo β (*HBE*, *HBG2*, *HBG1*, *HBD* e *HBB*) são representados por retângulos coloridos na orientação 5'→3'. Os pseudogenes dos *cluster* α (*HBZP*, *HBAP2* e *HBAP1*) e β (*HBBP*) são representados por retângulos em cinza. Os locais de hipersensibilidade à DNase I (HS), componentes das regiões controladoras de *locus* gênico (LCR), são representados em preto. MCS: sequências conservadas multi espécies.

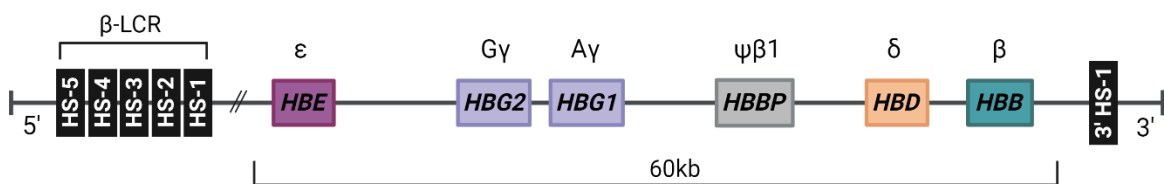
Cromossomo 16 p13.3

Cluster da α -globina



Cromossomo 11 p15.4

Cluster da β -globina



Fonte: A autora (2024). Criado usando BioRender.com

A organização estrutural 5'→3' dos genes em ambos os *clusters* está na ordem de sua expressão ontogenética durante o desenvolvimento. O controle da expressão coordenada desses genes, depende da regulação por promotores proximais e *enhancers* ou acentuadores distais dos *clusters* (PHILIPSEN; HARDISON, 2018). A região controladora de *locus* gênico (LCR, do inglês *Locus control region*), localizada na extremidade 5' de cada *cluster*, é um elemento *cis*-regulatório essencial para o alto nível de transcrição controlada dos genes nos respectivos tecidos (PATRINOS; ANTONARAKIS, 2010; WILBER *et al.*, 2011).

O LCR do *cluster* beta (β -LCR) localiza-se aproximadamente 20 kb a montante do gene *HBE*, e consiste em cinco locais de abertura da cromatina, identificados como locais de hipersensibilidade à DNase-I (HS 1-5). Cada HS possui uma sequência central, com aproximadamente 250 nucleotídeos formada por diversos motivos de

ligação para fatores de transcrição (STAMATOYANNOPOULOS, 2005). Os HS, estão localizados em regiões desprovidas de nucleossomos e são mais acessíveis do que outras regiões da cromatina para interações com fatores de transcrição e sequências genéticas distais. Outro HS descrito, é o 3' HS1, que está posicionado 3' em relação ao gene *HBB* (BANK, 2006).

Os elementos reguladores do *locus* da alfa globina incluem uma série de sítios HS conservados (HS-48, HS-46, HS-40, HS-33 e HS-10) que ficam entre 10 e 50 kb a montante do início do gene *HBZ*. Atualmente conhecidos por sequências conservadas multiespécies (MCS, do inglês *Multispecies conserved sequences*), esses elementos promovem a ligação a fatores de transcrição específicos eritroides e o alto nível de expressão do gene da α -globina, principalmente mediado pelo MCS-R2 (HS-40) (MARTYN *et al.*, 2017; VOON; VADOLAS, 2008).

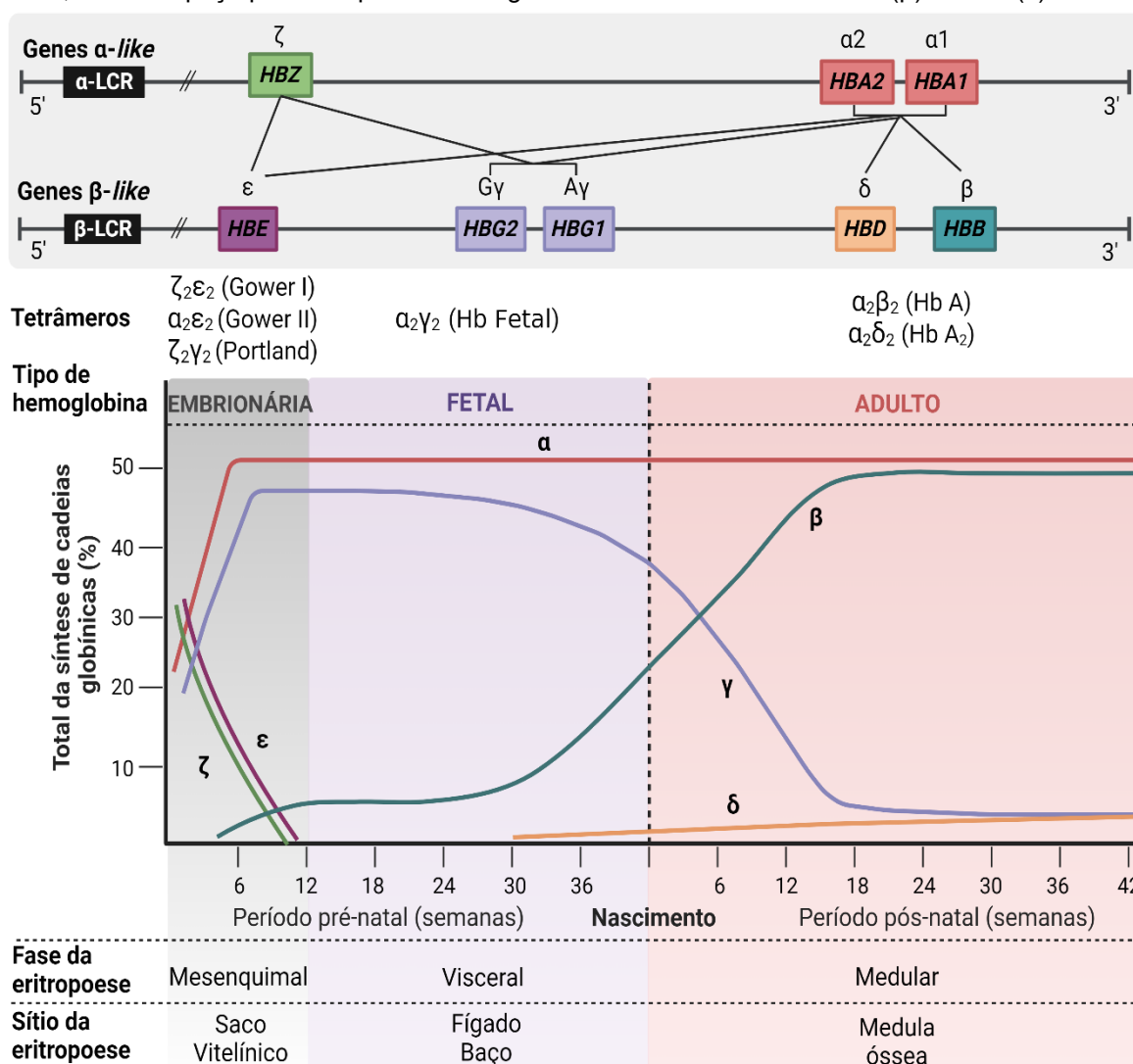
2.1.2 Ontogenia das hemoglobinas humanas

A expressão específica dos genes nos *clusters* globínicos permite a formação de diferentes isoformas de hemoglobina devido às diferenças nas necessidades de O_2 nos vários estágios de desenvolvimento humano (ADEKILE, 2021). As hemoglobinas de embriões e fetos humanos apresentam adaptações específicas para a transferência de O_2 materno-fetal incluindo maior afinidade e maior capacidade de transporte de O_2 no sangue comparado a um indivíduo pós nascimento (MAIRBÄURL; WEBER, 2012). Na maioria dos mamíferos, ocorrem duas trocas ou *switchs* de síntese de cadeias globínicas. Primeiro, das hemoglobinas embrionárias para a hemoglobina fetal e depois da hemoglobina fetal para a formação das hemoglobinas do adulto (STAMATOYANNOPOULOS *et al.*, 2009).

Na fase inicial do primeiro trimestre da gravidez, as cadeias das globinas embrionárias ζ e ε , a globina γ do *cluster* beta e a globina α são expressas nas células eritroides derivadas do saco vitelino primitivo. Em humanos, essas cadeias formam tetrâmeros de hemoglobinas embrionárias conhecidas por Gower I ($\zeta_2\varepsilon_2$), Gower II ($\alpha_2\varepsilon_2$), e Portland ($\zeta_2\gamma_2$), que desaparecem depois de 8 a 10 semanas de vida embrionária (SCHECHTER, 2008). A primeira mudança de hemoglobinas é caracterizada pela troca do sítio de eritropoiese do saco vitelínico para o fígado fetal e pelo declínio da

expressão das cadeias ζ e ε e aumento da expressão da γ globina que forma a hemoglobina fetal (Hb F, $\alpha_2 \gamma_2$) (Figura 3) (PATRINOS; ANTONARAKIS, 2010; VENKATESAN *et al.*, 2021).

Figura 3 - Representação da expressão controlada durante as fases de desenvolvimento, dos diferentes tipos de hemoglobinas humanas. A parte superior da figura ilustra como as diferentes cadeias globínicas expressas se combinam para formar os diferentes tetrâmeros das hemoglobinas. A parte inferior ilustra os períodos de desenvolvimento humano e a expressão das cadeias globínicas de acordo com cada período. As cadeias do tipo alfa (α) possuem expressão elevada e constante durante toda vida. No período embrionário as cadeias zeta (ζ) e épsilon (ε) possuem expressão acentuada, decaindo no período fetal, onde há alta expressão da globina γ . Após o nascimento a expressão de cadeias γ decai, dando espaço para a expressão das globinas do adulto: cadeias beta (β) e delta (δ).



Fonte: A autora (2024). Criado usando BioRender.com

A expressão de Hb F predomina nos últimos dois trimestres de gestação, até que algumas semanas antes do nascimento ocorre um decréscimo gradual na expressão da γ globina e aumento da β globina. Ao nascimento, a repressão da expressão da γ globina é efetivamente alcançada, marcando a mudança da Hb F para

a expressão das Hbs do adulto na medula óssea, as quais são completamente prevalentes ao fim de 1 ou 2 anos de vida (Figura 3) (SCHECHTER, 2008; STAMATOYANNOPOULOS *et al.*, 2009).

As hemoglobinas definitivas do adulto são a Hb A ($\alpha_2 \beta_2$) e a Hb A₂ ($\alpha_2 \delta_2$). Nos eritrócitos de indivíduos sem hemoglobinopatias, a hemoglobina A corresponde a maior quantidade das moléculas de hemoglobina (~97%), enquanto a hemoglobina A₂ (2%-3%) e a hemoglobina F (<1%) correspondem a frações menores (PAIKARI; SHEEHAN, 2018).

2.1.3 Controle molecular do *switch* da hemoglobina fetal para adulto

A expressão dos genes das globinas humanas é controlada por uma rede complexa de diversas sequências e elementos de ação *cis* e *trans*. Sumariamente, a regulação da expressão é alcançada em três níveis: Pela regulação distal através dos LCR dos *loci* da α e β -globina que se ligam aos promotores e permitem a expressão específica a depender do estágio de desenvolvimento, pela regulação proximal através de fatores de transcrição que se ligam aos LCR e a região promotora dos genes das globinas e permitem sua expressão e, por último, por modificações epigenéticas associadas a atividades de remodelação da cromatina (BANK, 2006; FONTANA *et al.*, 2023).

Região controladora de locus gênico (LCR)

O LCR é um elemento de ação *cis* de longa distância, necessário para a expressão de alta eficiência dos genes das cadeias globínicas. O mecanismo pelo qual o LCR interage com os genes da globina ainda não é completamente esclarecido, entretanto quatro modelos para explicar essa interação foram propostos: o modelo de *looping*, o modelo de ligação, o modelo de *tracking* e o modelo de *tracking* facilitado (HARJU *et al.*, 2002; STAMATOYANNOPOULOS, 2005).

Atualmente, o modelo de *looping* é o que melhor descreve esse mecanismo. Neste modelo, as regiões HS do β LCR se dobram formando um holocomplexo, onde os elementos centrais do HS constituem um sítio ativo de ligação a fatores de transcrição e a região flanqueadora dos elementos centrais estabilizam a conformação

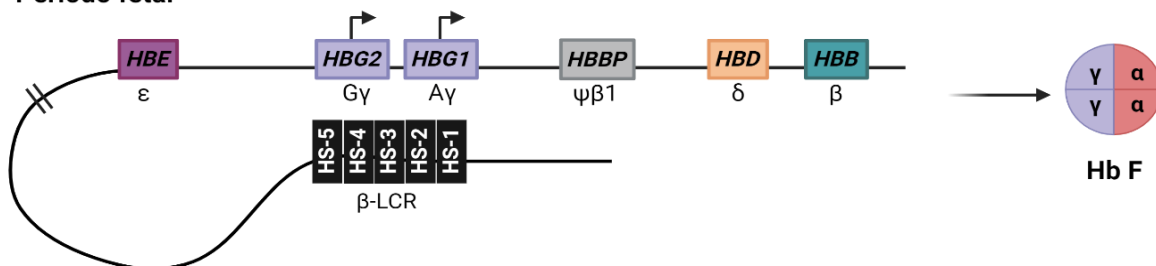
do holocomplexo. Esta estrutura faz um “loop” físico permitindo a ligação do LCR com os elementos proximais do gene alvo, e a associação de fatores de transcrição ligados ao LCR com outros coativadores e o aparelho transcricional basal, ativando por fim a expressão do gene globínico específico (Figura 4) (HARJU *et al.*, 2002; LIANG *et al.*, 2008).

Figura 4 - Modelo simplificado do controle da transcrição dos genes no *locus* da β -globina nos estágios de desenvolvimento fetal e adulto. A interação em *looping* da região controladora de *locus* gênico (LCR) e de fatores de transcrição específicos, permite a expressão seletiva e sequencial das cadeias globínicas. No período fetal o LCR estabelece interações com o promotor dos genes da gama globina favorecendo sua expressão. No período adulto, a interação do LCR como promotor da beta globina promove a “troca” do perfil das hemoglobinas, com expressão acentuada de Hb A.

Cromossomo 11 p15.4

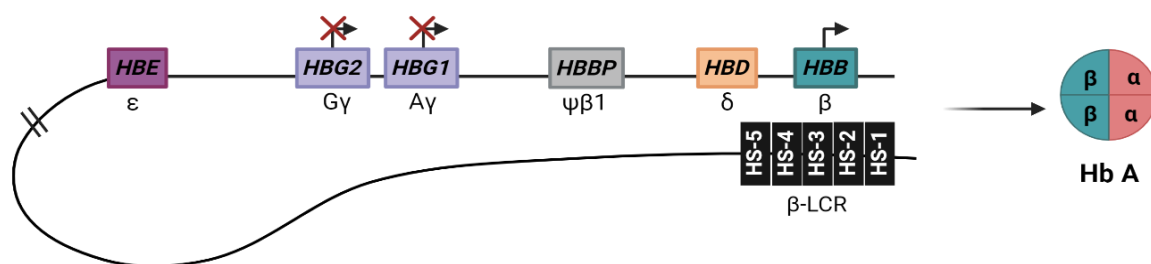
Locus da β -globina

Período fetal



Switch hemoglobínico

Após o nascimento



Fonte: A autora (2024). Criado usando BioRender.com

Por meio da interação de longo alcance, o LCR leva a expressão significativa de um gene do *cluster* beta por vez. O silenciamento dos genes γ durante o desenvolvimento é um evento complexo, no qual o LCR atua por meio de dois mecanismos, a competição gênica e o silenciamento autônomo de genes. (MAHAJAN *et al.*, 2007; STAMATOYANNOPOULOS *et al.*, 2009). Na competição gênica, os promotores dos genes das globinas competem pela interação com o LCR durante os

estágios de desenvolvimento. A expressão preferencial é favorecida pela presença de fatores de transcrição específicos de cada estágio e a distância do LCR. Assim, na fase de desenvolvimento fetal a disponibilidade de fatores específicos do estágio fetal favorece a interação preferencial entre os genes γ e o LCR; enquanto os genes da β globina são desativados competitivamente. Por outro lado, durante a fase de desenvolvimento adulta, o LCR interage preferencialmente com o gene β , resultando no silenciamento dos genes da γ globina (HARJU *et al.*, 2002; STAMATOYANNOPOULOS *et al.*, 2009).

No silenciamento autônomo, todos os elementos responsáveis pelo silenciamento da expressão gênica estão contidos na estrutura do gene ou nas sequências adjacentes. Este mecanismo envolve a interação das sequências do promotor proximal e distal do gene alvo e a participação de diversos fatores de transcrição que se ligam ao DNA, favorecendo ou inibindo a ligação do LCR com as sequências gênicas (STAMATOYANNOPOULOS, 2005; STAMATOYANNOPOULOS *et al.*, 2009).

Fatores de transcrição

Diversos fatores de transcrição de ação *trans* se ligam nas sequências da região promotora dos genes e no LCR e desempenham papel crucial na expressão das cadeias globínicas (HARIHARAN; NADKARNI, 2021; LEVINGS; BUNGERT, 2002). Durante a transição da Hb F para as hemoglobinas do adulto, os genes que codificam a γ -globina, são reprimidos por complexos transcripcionais que incluem GATA1, TR2/TR4, MYB, KLF1, SOX6, BCL11A, DNMT1 e HDAC1/ 2 (Tabela 1) (SANKARAN; ORKIN, 2013).

O GATA-1 é um fator de transcrição específico eritroide essencial para a expressão dos genes das globinas e a diferenciação das células eritroides. O GATA-1 faz parte de uma família de fatores de transcrição contendo dedos zinco e se liga a região consenso WGATAR presente na região reguladora de vários genes do desenvolvimento eritroide e às sequências do LCR (HARIHARAN; NADKARNI, 2021; HARJU *et al.*, 2002; KATSUMURA *et al.*, 2013). A depender da sequência de ligação e de sua interação com outras proteínas, o GATA-1 pode funcionar como ativador ou repressor da expressão gênica (LIANG *et al.*, 2008). A maioria das funções do GATA-

1, como a repressão dos genes γ durante o estágio adulto, requer ligação com outras proteínas como a FOG-1 (Figura 5) (HARJU-BAKER *et al.*, 2008; MICCIO; BLOBEL, 2010).

O fator nuclear eritroide 4 (NF-E4 do inglês, *Nuclear Factor, Erythroid 4*) também tem sido implicado na regulação da expressão da γ globina em humanos. Esta proteína é expressa em duas isoformas, sendo a isoforma longa de 22 kDa, associada com a formação de um dímero heteromérico com o fator de transcrição CP2, chamado de proteína seletora de estágio (SSP, do inglês *stage selector protein*), que atua como um ativador da expressão da γ globina (ZHOU *et al.*, 2000, 2004). A isoforma curta p14 NF-E4, é abundante nas células eritroides adultas, e tem sido associada com a repressão da expressão do gene da γ globina após o nascimento (WILBER *et al.*, 2011).

O fator Krüppel-like 1 (KLF1, do inglês *Krüppel-like factor*) ou fator eritroide Krüppel-like, é um fator de transcrição com domínio de dedos de zinco com papel crucial da expressão dos genes globínicos (VINJAMUR *et al.*, 2016). O KLF1 desempenha um papel dual no controle do *switch* hemoglobínico, atuando tanto na ativação da expressão do gene da β globina e simultaneamente contribuindo para a supressão da expressão do gene da γ globina (HARIHARAN; NADKARNI, 2021).

Para a ativação da β globina, o KLF1 se liga diretamente na sequência CACCC da região promotora do gene *HBB*, bem como facilita a interação do LCR com o promotor do *HBB* desencadeando a produção de cadeias do tipo beta (BLOBEL; WEISS, 2009; CARIA *et al.*, 2022). Além disso, na repressão da expressão da γ globina, o KLF1 não atua diretamente, mas exerce esse papel por meio da ativação da expressão do BCL11A, um potente silenciador que reprime a expressão dos genes *HBG* (Figura 5) (TALLACK; PERKINS, 2013; ZHOU *et al.*, 2010). Dessa forma, mudanças na disponibilidade de KLF1 a depender do estágio de desenvolvimento, favorecem as interações competitivas do LCR com os genes das globinas, além de regular a expressão de BCL11A e o silenciamento da expressão de cadeias tipo gama (ZHOU *et al.*, 2010).

O BCL11A (do inglês, *B-cell CLL/lymphoma 11A*) é outro fator de transcrição com domínio em dedos de zinco fortemente implicado com a inibição da expressão dos genes *HBG* no *locus* da β globina. O papel crucial do BCL11A na expressão da

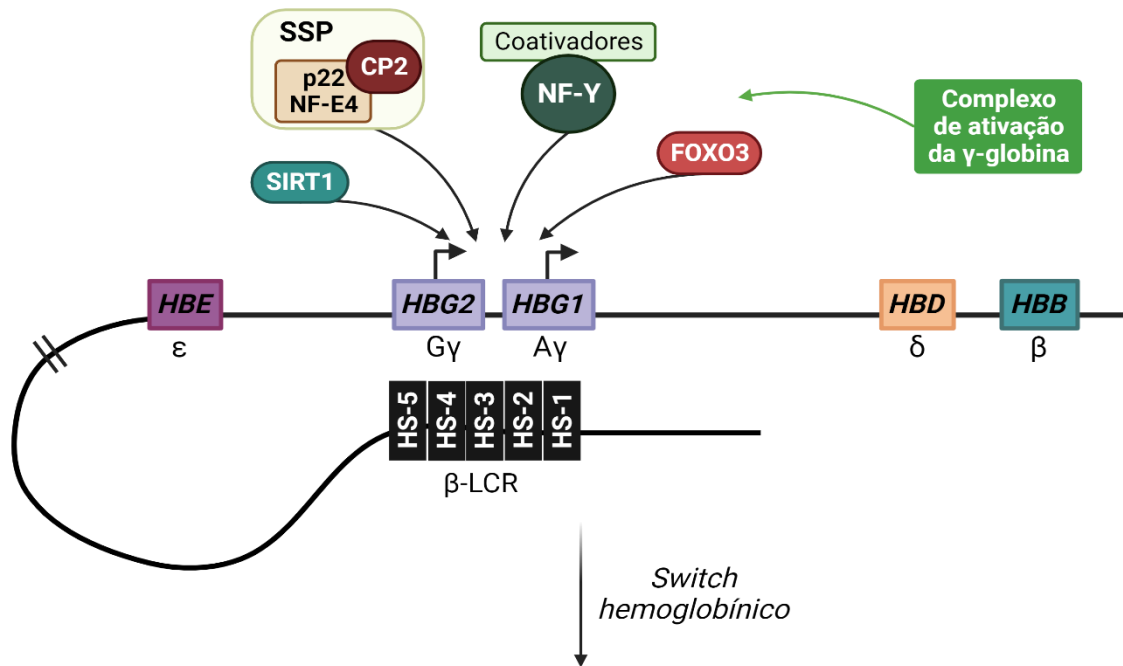
Hb F foi inicialmente identificado por meio de estudos de associação ampla do genoma (GWAS, do inglês *Genome-Wide Association Study*) que mostraram que polimorfismos em regiões intrônicas do gene *BCL11A* estavam fortemente associados com os níveis de Hb F (MENZEL *et al.*, 2007; UDA *et al.*, 2008). Além disso, foi observado que a regulação negativa da expressão de *BCL11A* em células eritróides primárias leva à expressão robusta de Hb F (SANKARAN *et al.*, 2008).

O mecanismo pelo qual o *BCL11A* regula os níveis de a Hb F se dá por meio da ligação direta ao motivo TGACCA da região promotora dos genes $A\gamma$ e $G\gamma$ reprimindo a expressão da gama globina, e por meio da promoção da ligação do β -LCR, particularmente o HS3, com o gene *HBB* (LIU *et al.*, 2018; WILBER *et al.*, 2011). Foi demonstrado que o *BCL11A* exerce sua função interagindo com outros reguladores eritróides como o GATA1, SOX6, ZFPM1/FOG1 e o complexo repressor NuRD (Figura 5) (XU *et al.*, 2010, 2013).

Além do *BCL11A*, variantes na região intergênica dos genes *HBS1L-MYB* também foram identificadas como modificadoras significativas dos níveis de Hb F por estudos GWAS (THEIN *et al.*, 2007). O gene *HBS1L* codifica uma proteína com aparente atividade de ligação ao GTP e está envolvida em uma variedade de processos celulares. O gene *MYB* (que codifica o fator de transcrição c-Myb) é um regulador chave da hematopoiese e da eritropoiese e além de influenciar nos níveis de Hb F. O c-Myb modula a expressão da Hb F por meio da ativação do KLF1 e de outros repressores do *HBG*, como os receptores nucleares TR2/TR4 (Figura 5) (BIANCHI *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2018).

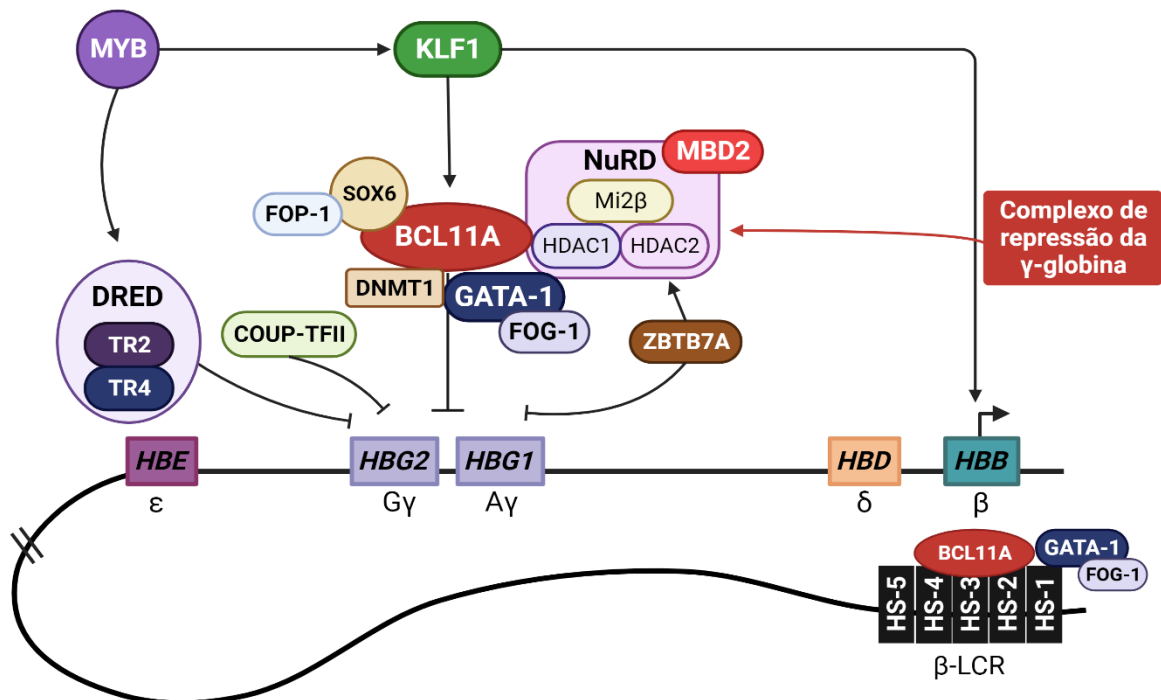
Figura 5 - Representação esquemática da regulação da troca da hemoglobina fetal para adulto baseada na interação em *looping* do LCR e na presença de vários fatores de transcrição. No período fetal o complexo ativador promove a interação do LCR com os promotores dos genes *HBG* para ativar a expressão da γ globina, aumentando assim os níveis de Hb F. No período adulto, após o nascimento, vários fatores de transcrição formam um complexo repressivo diminuindo a expressão da γ globina, bloqueando a interação do promotor dos genes *HBG* com LCR e favorecendo sua interação com o gene da β globina levando assim ao aumento da Hb A.

Período fetal



Switch hemoglobínico

Após o nascimento



Regulação epigenética

Modificações epigenéticas, como modificações nas histonas e metilação do DNA, em cooperação com os fatores de transcrição, também contribuem para a troca de hemoglobina fetal para adulto (FONTANA *et al.*, 2023). Após o nascimento, os genes da gama-globina estão associados ao aumento da metilação, à perda de modificações de histonas ativas circundantes e a uma diminuição na acessibilidade da cromatina (BAUER; ORKIN, 2011; PAIKARI; SHEEHAN, 2018). Diversos complexos repressivos multiproteicos contribuem para o silenciamento do promotor dos genes *HBG*, incluindo a arginina metiltransferase PRMT5, a lisina metiltransferase SUV4-20 h1, a serina/treonina quinase CK2alfa, a enzima metilante de DNA DNMT3A, e componentes do complexo NuRD (FONTANA *et al.*, 2023; PAIKARI; SHEEHAN, 2018).

O complexo de remodelação do nucleossomo e histona desacetilase (NuRD) consiste em várias subunidades enzimáticas, incluindo a subunidade ATPase Mi-2 β e as histonas desacetilases (HDAC1 e HDAC2) (XU *et al.*, 2013). Foi demonstrado que o NuRD interage com o complexo GATA-1/FOG-1 e com o BCL11A para o silenciamento dos genes da gama globina (Figura 5) (HARJU-BAKER *et al.*, 2008; MICCIO; BLOBEL, 2010; XU *et al.*, 2013). O MBD2, um membro da família de proteínas do domínio de ligação metil-CpG, se associa com o NuRD e é necessário para a formação estável do complexo repressor que inclui o BCL11A, contribuindo para o silenciamento do gene da γ -globina em células eritroides humanas adultas (SHANG *et al.*, 2023; YU *et al.*, 2019).

Além disso, outras enzimas modificadoras epigenéticas, como a DNA metiltransferase 1 (DNMT1) foram sugeridas como potenciais alvos para a indução de Hb F (SANKARAN; ORKIN, 2013). A DNMT1 promove a metilação do DNA predominantemente em locais CpG, levando em células eritroides adulta a repressão da expressão da gama globina, em associação com outros fatores de transcrição como o GATA-1 e o BCL11A (Figura 5) (PAPAGEORGIU *et al.*, 2016; XU *et al.*, 2013).

Tabela 1 - Principais reguladores envolvidos na expressão das cadeias globínicas gama e beta.

Regulador	Nome	Mecanismo de regulação no <i>locus</i> da beta globina	Expressão da γ globina
GATA-1	<i>GATA-binding factor 1</i>	Regulador mestre da diferenciação eritroide. Interage com o LCR e região promotora dos genes globínicos	Repressão
FOG-1	<i>Friend of GATA-1</i>	Interage com o GATA-1 para facilitar a maturação eritróide e megacariocítica	Repressão
KLF1	<i>Küppel-like factor 1</i>	Promove a expressão dos genes <i>BCL11A</i> e <i>HBB</i>	Repressão
MYB	<i>MYB Proto-Oncogene</i>	Ativa o KLF1 e outros repressores do <i>HBG</i> , como o TR2/TR4	Repressão
BCL11A	<i>B-cell CLL/lymphoma 11A</i>	Se liga e reprime a expressão dos genes <i>HBG</i> e facilita a associação do LCR com o gene <i>HBB</i>	Repressão
SOX6	<i>SRY-box transcription factor 6</i>	Se liga a região promotora do <i>HBG</i> por meio da interação com o BCL11A	Repressão
LRF/ZBTB7A	<i>Leukemia/ lymphoma Related Factor</i>	Se liga aos genes <i>HBG</i> e recruta o complexo NuRD	Repressão
DNMT1	<i>DNA metiltransferase 1</i>	Promove a metilação dos genes <i>HBG</i> e interage com o GATA-1 e o BCL11A	Repressão
COUP-TFII	<i>Nuclear orphan receptor</i>	Se liga a repetições diretas no promotor do gene da γ globina.	Repressão
Complexo DRED	<i>Direct repeat erythroid-definitive complex</i>	Heterodímero formado por 2 receptores nucleares órfãos, TR2 e TR4. Se liga a repetições diretas no promotor do gene da γ globina.	Repressão
Complexo NuRD	<i>Nucleosome remodeling and histone deacetylase complex</i>	Formado por Mi-2 β , HDAC1 e HDAC2. Por meio da ligação com o MBD2, interage com o GATA-1/FOG-1 e com o BCL11A	Repressão
FOP 1	<i>Friend of protein arginine methyl transferase 1</i>	Fator de transcrição que participa da repressão da gama globina possivelmente mediado por SOX6	Repressão
p22 NF-E4	<i>Nuclear Factor, Erythroid 4</i>	Forma o complexo SSP com o fator de transcrição CP2, que atua como um ativador da expressão da γ globina	Ativação
NF-Y	<i>Nuclear transcription factor Y</i>	Junto com outros coativadores, se liga aos promotores do <i>HBG</i> e modifica a cromatina para ativar a expressão da γ -globina	Ativação
FOXO3	<i>Forkhead Box O3</i>	Fator de transcrição necessário para maturação eritroide	Ativação
SIRT1	<i>Sirtuin 1</i>	Facilita a interação do LCR com o promotor <i>HBG</i> , inibe a expressão de repressores do <i>HBG</i> e aumenta a acetilação de histonas no promotor <i>HBG</i>	Ativação

Fonte: A autora (2024).

2.1.4 Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias correspondem a um amplo espectro de distúrbios hereditários, causados por defeitos quantitativos (talassemias α e β) e qualitativos (variantes estruturais) na molécula de Hb (HARTEVELD *et al.*, 2022). As talassemias são caracterizadas pela ausência ou diminuição acentuada da síntese de uma das cadeias globínicas, sendo os tipos de importância clínica, as talassemias α e β . (FORGET; FRANKLIN BUNN, 2013).

As Hbs variantes são causadas por mutações nos *locus* globínicos que alteram estruturalmente a molécula, podendo ou não afetar suas propriedades funcionais. Segundo dados do HbVar, uma base de dados para hemoglobinas variantes e talassemias, até janeiro de 2024, foram reportadas 1.426 hemoglobinas variantes diferentes, sendo mais de 900 envolvendo mutações no gene *HBB* (GIARDINE *et al.*, 2014). Dentre essas, a hemoglobina S (Hb S), se destaca pela elevada frequência mundial e as diversas implicações fisiopatológicas (SERJEANT, 2013).

O termo doença falciforme (DF) é utilizado para descrever um grupo de hemoglobinopatias, caracterizadas pela herança da Hb S em homozigose ou heterozigose composta. A anemia falciforme (AF), doença autossômica recessiva definida pela homozigose da Hb S, é a forma mais comum e grave representando cerca de 70% dos casos de DF (PIEL *et al.*, 2010). Outras formas de DF compreendem casos de heterozigotos compostos onde há associação da Hb S com outra hemoglobina variante (ex. Hb C, Hb D) ou com a β talassemia (Hb S/ β^+ talassemia e Hb S/ β^0 talassemia), condições na qual a sintomatologia é variável. Em heterozigose (Hb AS) os indivíduos são assintomáticos e apresentam condição conhecida por traço falciforme (STEINBERG, 2008; WARE *et al.*, 2017).

2.2 ANEMIA FALCIFORME

2.1.1 Etiologia e epidemiologia

Mais de 100 anos se passaram desde a primeira publicação formal de um caso de AF em um jovem de origem caribenha, que apresentava anemia severa e eritrócitos peculiarmente alongados e com formato de foice no estiraço sanguíneo (HERRICK,

1910). Conforme ficou conhecida, a doença de células falciformes, era associada a indivíduos negros com anemia severa, icterícia e inchaço nas articulações (MASON, 1922). As décadas que se seguiram, foram marcadas por um número progressivo de relatos da AF e diversos avanços na elucidação das bases moleculares da doença (SERJEANT, 2001, 2010).

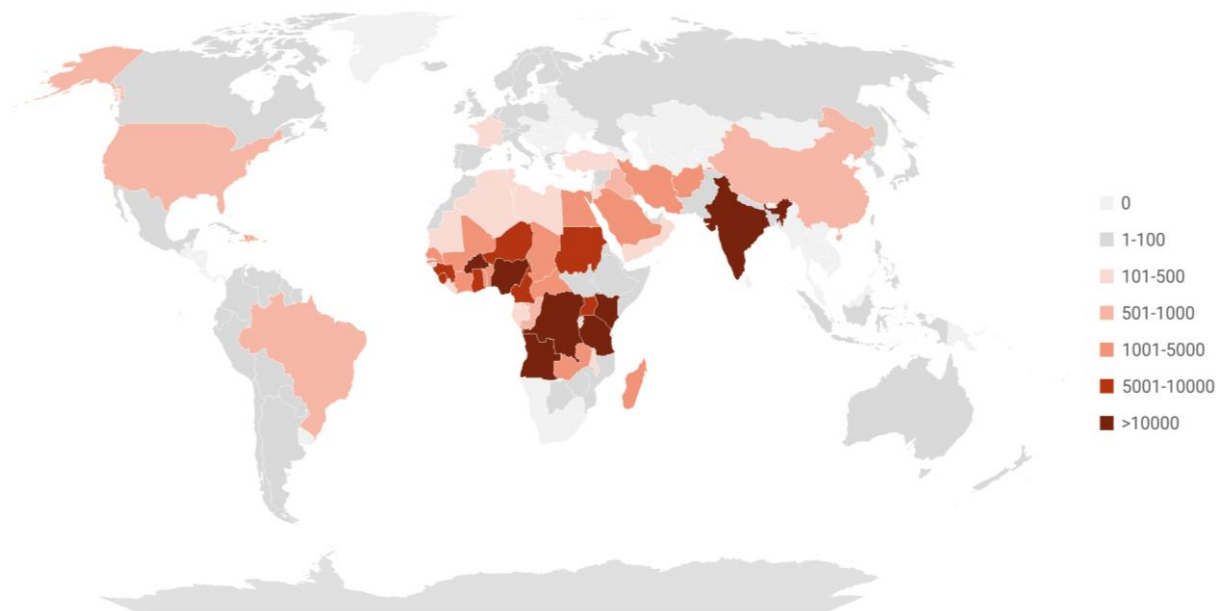
Em 1947, no Brasil, o médico baiano Jessé Accioly, em um jornal local de baixa circulação, propôs corretamente que a característica da doença seria herdada em homozigose (ACCIOLY, 1947). Entretanto, o padrão de hereditariedade da AF também foi independentemente descoberto e atribuído a Neel e Beet (BEET, 1949; NEEL, 1949). Em 1949, Linus Pauling e cols. mostraram que a AF era associada com a presença de uma molécula de hemoglobina anormal, culminando na primeira descrição de uma doença molecular (PAULING *et al.*, 1949). Os achados de Pauling pavimentaram o caminho para o estudo das bases moleculares de diversas doenças e trouxeram uma ênfase crescente para a investigação básica e clínica na DF (PRABHAKAR *et al.*, 2010).

A hemoglobina S (Hb S) é uma variante estrutural patológica da hemoglobina normal do adulto (Hb A) que resulta de uma mutação pontual no gene da β -globina (*HBB*), localizado no cromossomo 11p15.15. Esta alteração molecular consiste na substituição da base nitrogenada adenina por timina no sexto códon do gene *HBB*, levando à troca de um resíduo de ácido glutâmico hidrofílico por um resíduo de valina hidrofóbico com conseqüente mudança na molécula de hemoglobina (*HBB*, glu6val, rs334) (FRENETTE; ATWEH, 2007; STEINBERG *et al.*, 1995). Indivíduos com AF, são homozigotos para a mutação, produzindo apenas cadeias β^S .

Estudos apontam que a origem da mutação β^S remonta de 7.300 anos atrás no continente africano (SHRINER; ROTIMI, 2018). A distribuição geográfica do alelo β^S foi historicamente impulsionada pela vantagem seletiva conferida pela heterozigose para a Hb S (Hb AS), que oferece maior resistência à forma grave da malária causada pelo parasita *Plasmodium falciparum* (Figura 6) (ESOH; WONKAM, 2021). Assim, a prevalência da AF é alta em regiões endêmicas para a malária como a África Subsaariana, partes do Oriente Médio, do Mediterrâneo e da Índia. Entretanto, o comércio de escravos e os movimentos migratórios populacionais favoreceram a distribuição do alelo β^S muito além das suas regiões de origem (PIEL *et al.*, 2017). Grande parte dos africanos forçados a migrar para as Américas foram distribuídos

para os Estados Unidos e regiões da América Latina, principalmente o Brasil e Caribe (HUTTLE *et al.*, 2015).

Figura 6 - Número estimado de nascimentos de indivíduos com DF (genótipos SS e S β 0) por país no ano de 2021.



Fonte: A autora (2024). Construído com dados do *Global Burden of Disease (2021)* (GBD 2021 SICKLE CELL DISEASE COLLABORATORS, 2023).

Segundos dados do último relatório do *Global Burden of Disease*, no ano de 2021, existiam 5,8 milhões de pessoas no mundo vivendo com casos graves de DF (genótipos SS e S β 0) e 394.000 nascimentos com a doença, sendo mais de 70% dos casos registrados na África subsaariana (Figura 6) (GBD 2021 SICKLE CELL DISEASE COLLABORATORS, 2023). As estimativas ainda apontam que 34.400 pessoas morreram devido a complicações decorrentes da doença e em crianças com idade inferior a 5 anos, a DF é a 11ª principal causa de morte (GBD 2021 SICKLE CELL DISEASE COLLABORATORS, 2023). Portanto, a distribuição mundial de casos de DF está aumentando e espera-se que continue a aumentar num futuro próximo, devido a maior proporção de nascimentos em locais com taxas elevadas do alelo β^S , além do impacto adicional da migração populacional (PIEL *et al.*, 2013, 2014).

No Brasil estima-se que existam entre 60 mil e 100 mil pacientes com DF (CANÇADO *et al.*, 2023). A prevalência do alelo β^S no Brasil é bastante heterogênea, variando de 1,2% a 10,9%, dependendo da região, sendo a Bahia, o Distrito Federal e o Piauí os estados com maior incidência (KATO *et al.*, 2018; MINISTÉRIO DA

SAÚDE, 2022). Considerando a prevalência e gravidade da DF, em 2001 o Ministério da Saúde, mediante a portaria nº 822/01, determinou que a pesquisa de hemoglobinopatias fosse realizada como parte do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), facilitando o diagnóstico e o tratamento dos pacientes (SANTOS *et al.*, 2021). Além disso, com o objetivo de aprimorar as medidas de saúde pública relacionadas a DF, em novembro de 2023, o Ministério da Saúde determinou que os casos de DF devem ser incluídos na Lista Nacional de Notificação Compulsória de Doenças, Agravos e Eventos de Saúde Pública nos serviços de saúde públicos ou privados em todo o Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023b).

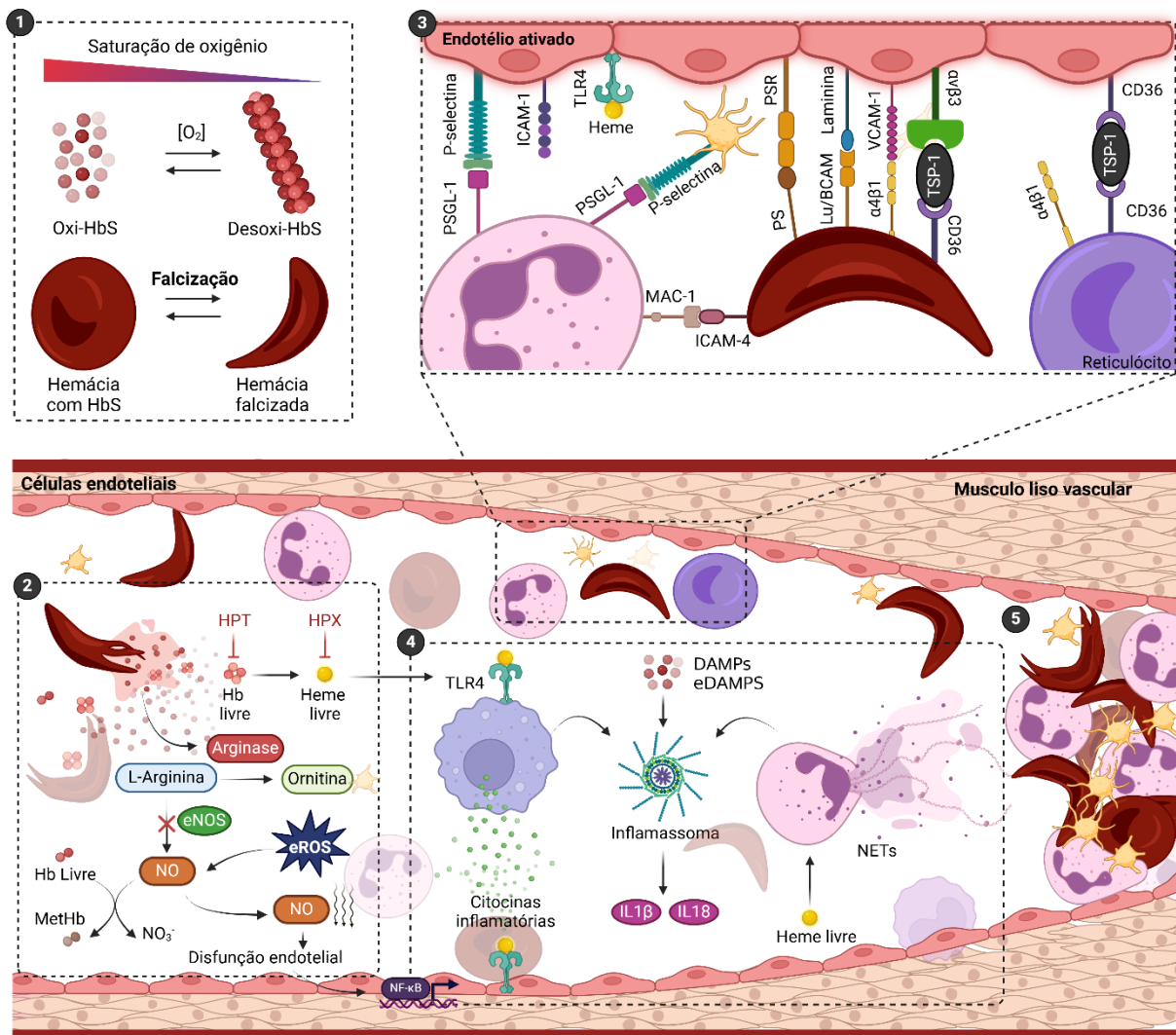
Segundo dados do PNTN, entre 2014 e 2020, a incidência da DF foi de um caso a cada 2,5 mil nascidos vivos (cerca de 1,1 mil casos por ano) e em média de 63 mil casos de Hb AS por ano (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023a). Em Pernambuco, a incidência de DF no ano de 2021 foi de 1 para cada 3.236 nascidos vivos e de traço falciforme de 1 para cada 51 nascidos vivos (PNTN-CGSH/DAET/SAES/MS, 2023).

Dados estimados de mortalidade no Brasil mostram que a idade mediana ao óbito é de 32 anos entre indivíduos com DF e 69 anos entre a população geral (redução de aproximadamente 37 anos para o grupo com DF). Além disso, indivíduos de 1 a 9 anos e de 10 a 39 anos com DF apresentaram um risco 32 e 13 vezes maior de morte, respectivamente, comparado com a população em geral (CANÇADO *et al.*, 2023). Assim, as taxas elevadas de mortalidade ainda apontam para a necessidade de descentralização do rastreio neonatal e melhoria das intervenções terapêuticas (CORDOVIL *et al.*, 2023).

2.1.2 Fisiopatologia da anemia falciforme

A fisiopatologia da AF é caracterizada pela interação complexa e simultânea de diversos eventos que favorecem as complicações clínicas da doença (Figura 7): (1) a polimerização da desoxi-Hb S e falcização eritrocitária, (2) a hemólise crônica e disfunção endotelial, (3) a adesão celular, (4) a inflamação estéril e (5) e a oclusão microvascular (SAAH *et al.*, 2022).

Figura 7 – Principais eventos envolvidos na fisiopatologia da anemia falciforme. 1) A desoxigenação da hemoglobina induz a polimerização da desoxi-HbS, que pode resultar na deformação dos eritrócitos e formação de eritrócitos falcizados. 2) A lise dos eritrócitos libera hemoglobina livre (Hb livre), que é capturada pela haptoglobina (HPT) e, posteriormente, o heme livre é sequestrado pela hemopexina (HPX). Em decorrência da hemólise há também liberação da arginase, que degrada L-arginina em ornitina, reduzindo a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) e prejudicando a função da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS). A oxidação da hemoglobina gera metemoglobina (MetHb) e espécies reativas de oxigênio (eROS), contribuindo para a disfunção endotelial e inflamação vascular. 3) O fator nuclear kB (NF- κ B) é ativado nas células endoteliais, promovendo a expressão de moléculas de adesão, como molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1), P-selectina e PSGL-1. Essas moléculas facilitam a interação dos eritrócitos falcizados, leucócitos e plaquetas com o endotélio. Outras proteínas, como laminina e LU/BCAM, participam dessas interações celulares. 4) O heme livre atua como um padrão molecular associado a danos (DAMP), ativando células endoteliais, macrófagos e neutrófilos via receptor do tipo Toll 4 (TLR4). Essa ativação estimula a liberação de citocinas inflamatórias, como interleucina-1 β (IL-1 β) e interleucina-18 (IL-18), e promove a formação de NETs, exacerbando a inflamação vascular. 5) Os eritrócitos falcizados aderem ao endotélio por meio de interações com neutrófilos, reticulócitos e plaquetas ativadas, facilitadas por receptores como CD36, trombospondina-1 (TSP-1) e α 4 β 1 integrina. Essas interações levam à formação de agregados celulares que obstruem a microcirculação, resultando em isquemia e hipóxia tecidual.



Fonte: A autora (2024). Criado usando BioRender.com.

Polimerização da desoxi-Hb S e falcização eritrocitária

A Hb S difere estruturalmente da Hb A pela troca do ácido glutâmico na sexta posição da cadeia β globina pela valina, um aminoácido hidrofóbico. A presença da valina faz com que ocorra a exposição de sítios hidrofóbicos na desoxi-Hb, resultando em interações intermoleculares. Este fator, associado a um ambiente com baixa tensão de O₂, pode desencadear a polimerização dos tetrâmeros de Hb S e deformação dos eritrócitos, tornando-os falcizados (FERRONE, 2018; PICCIN *et al.*, 2019).

Os eritrócitos falcizados ou drepanócitos, são mais rígidos, frágeis, propensos a hemólise e incapazes de deformar-se adequadamente para passar pela microvasculatura (KUYPERS, 2014; NADER *et al.*, 2021). O processo de polimerização é reversível quando restabelecidas tensões normais de O₂. Contudo, ciclos repetidos de polimerização e despolimerização causam danos ao citoesqueleto da membrana eritrocitária, tornando as células irreversivelmente falcizadas (STEINBERG, 2008; SUNDD *et al.*, 2019).

A extensão da formação do polímero de Hb S é diretamente proporcional a quantidade dessa Hb, demonstrando o papel crucial da sua concentração no fenômeno da falcização (DE FRANCESCHI *et al.*, 2011; HENRY *et al.*, 2020). Além da concentração intraeritrocitária de Hb S, o fenômeno de falcização depende do grau de desoxigenação da célula, pH, concentração de difosfoglicerato (2,3-DPG), temperatura e presença de outras hemoglobinas como a Hb A e a Hb F (EATON, 2020; KIM-SHAPIRO, 2009; TORRES *et al.*, 2022). A polimerização da desoxi-Hb S está também associada com a redução de água e íons celulares (desidratação) e aumento da densidade do eritrócito, com conseqüente aceleração da formação do polímero (DE FRANCESCHI *et al.*, 2011; KATO *et al.*, 2007).

Hemólise crônica e disfunção endotelial

A hemólise na AF é tanto extravascular mediada pelo reconhecimento e fagocitose dos drepanócitos pelas células do sistema reticulo endotelial (SRE), quanto intravascular mediada pelo sistema complemento (AZAR; WONG, 2017; ODIÈVRE *et al.*, 2011). A hemólise intravascular é responsável por aproximadamente 30% da

hemólise total de um paciente com AF, culminando na liberação diária de até 30 g de Hb na circulação (STEINBERG; SEBASTIANI, 2012). A expectativa de vida dos eritrócitos na AF cai para aproximadamente 10 a 20 dias, caracterizando um quadro de anemia crônica (TORRES *et al.*, 2022).

A Hb e o heme livre dissociado do tetrâmero promovem o distresse oxidativo, e lesão dos componentes celulares, especialmente nos vasos e nas células sanguíneas (KATO *et al.*, 2018). As glicoproteínas haptoglobina e a hemopexina formam complexos com a Hb e o heme livre, respectivamente, neutralizando seus efeitos tóxicos (MERLE *et al.*, 2018). No entanto, a hemólise crônica esgota a capacidade dessas proteínas de remoção dos subprodutos tóxicos da hemólise (YALAMANOGLU *et al.*, 2018). Assim, os produtos de liberação da hemólise favorecerem o distresse oxidativo, e contribuem para a vasculopatia por meio da diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), um gás vasodilatador (ABODERIN *et al.*, 2023; ALAYASH, 2018; REITER *et al.*, 2002).

A Hb livre sequestra o NO produzindo metahemoglobina (MetHb) e nitrato (NO_3^-) (KATO *et al.*, 2017; KATO GJ, HEBBEL RP, STEINBERG MH, 2009). Além disso, a arginase-1, uma enzima intraeritrocitária liberada durante a lise dos eritrócitos, converte a arginina, principal substrato para síntese de NO, em ornitina, reduzindo a reação de síntese de NO realizada pela NO sintase endotelial (eNOS) (HEBBEL *et al.*, 2020). Por fim, a Hb e o heme livre aumentam o distresse oxidativo e a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) o que diminui a biodisponibilidade de NO (ALAYASH, 2018; CONNES *et al.*, 2023). Dessa forma, a depleção crônica de NO contribui para a vasoconstrição, ativação de plaquetas, disfunção endotelial e aumento da expressão do fator nuclear kappa B (NF- κ B) com consequente aumento da expressão de moléculas de adesão endotelial (Figura 7) (GBOTOSHO, O. *et al.*, 2021; KATO GJ, HEBBEL RP, STEINBERG MH, 2009; NADER *et al.*, 2021).

Adesão celular

O endotélio na AF é anormalmente ativado, exibindo expressão aumentada de várias moléculas de adesão como a E-selectina, P-selectina, molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1), molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), laminina e integrina α V β 3 (KATO *et al.*, 2018). As moléculas superexpressas ativam e promovem

interações adesivas entre eritrócitos falcizados, endotélio vascular, leucócitos e plaquetas (CONNES *et al.*, 2023).

A hemácia falcizada apresenta a composição lipídica da sua membrana significativamente alterada, levando à maior exposição de fosfatidilserina (PS) na monocamada lipídica externa (KUYPERS, 2014). Essa mudança promove uma maior adesão dessas células com o endotélio vascular, por meio da interação com o receptor específico de fosfatidilserina (PSR), além de favorecer o seu reconhecimento e destruição pelos macrófagos do SRE (AZAR; WONG, 2017; PICCIN *et al.*, 2019). Outras numerosas moléculas também medeiam a interação entre os eritrócitos e as células endoteliais. Dentre elas se destacam a proteína luterana/molécula de adesão celular basal (Lu/BCAM) expressa em eritrócitos e em células endoteliais, a integrina $\alpha 4\beta 1$ e a molécula de adesão CD36 (GpIIb) (Figura 7) (BROUSSE *et al.*, 2015; CONRAN; EMBURY, 2021).

A hemólise também favorece o aumento da liberação de reticulócitos circulantes, que são células eritroides em estágio intermediário de maturação, entre os eritroblastos e os eritrócitos maduros (BROUSSE *et al.*, 2015; OFORI-ACQUAH, 2020). Os reticulócitos são ricos em moléculas membranares de adesão como a integrina $\alpha 4\beta 1$ e o CD36, e possuem papel crucial na progressão da vasculopatia e dos episódios vaso-oclusivos (CARDEN *et al.*, 2021; LAPOUMEROULIE *et al.*, 2019). A adesão dos drepanócitos e reticulócitos ao endotélio também pode ser intermediada por meio da interação com “moléculas-ponte”, como a trombospondina (TSP-1) (OLIVEIRA *et al.*, 2024).

Aliado a isso, a presença de leucócitos aderentes na microcirculação sugere fortemente que essas células, devido ao seu volume celular, são importantes contribuintes para a desaceleração circulatória e vaso-oclusão (TORRES; HIDALGO, 2022; ZHANG *et al.*, 2016). A P-selectina, expressa na superfície endotelial e em plaquetas, medeia o rolamento e adesão de neutrófilos à superfície do vaso, além de favorecer a formação de agregados entre as plaquetas e os neutrófilos por meio da ligação com ligante da P-selectina (PSGL-1) (HINES *et al.*, 2021; POLANOWSKA-GRABOWSKA *et al.*, 2010). Além disso, as interações entre eritrócitos e leucócitos foram associadas com a ligação entre ICAM-4 expresso nos eritrócitos e a integrina Mac-1 expressa nos leucócitos circulantes (Figura 7) (CONRAN; EMBURY, 2021; PICCIN *et al.*, 2019).

Inflamação estéril

A Hb e o heme livre, considerados padrões moleculares eritróides associados a danos (eDAMPS – do inglês *erythrocyte damage-associated molecular patterns*), por meio da geração de ROS propagam a lesão tecidual, e contribuem para a liberação de vários padrões moleculares associados a danos (DAMPs do inglês *damage-associated molecular patterns*) derivados de tecidos e células (BOZZA; JENEY, 2020; SUNDD *et al.*, 2019).

O heme livre pode contribuir para a inflamação estéril, por via dependente da ativação do receptor Toll-like 4 (TLR4), levando a ativação do inflamassoma NLRP3 nas células vasculares e inflamatórias com consequente liberação de IL-18 e IL-1 β (FIGUEIREDO *et al.*, 2007; NYAKUNDI *et al.*, 2019; PITANGA *et al.*, 2016). Além disso, o heme livre também ativa a formação e liberação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs, do inglês *neutrophil extracellular traps*), estruturas que contribuem para a agregação de outros neutrófilos e plaquetas, favorecendo a vaso-occlusão (Figura 7) (CHEN *et al.*, 2014).

A ativação dos macrófagos e do endotélio promove ainda a liberação de várias citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1 β , IL-8, IL-6, GM-CSF, inibidor do ativador de plasminogênio 1 (PAI-1), o que contribui ainda mais para o estabelecimento de um ambiente pró-inflamatório e pró-coagulante (CONRAN; BELCHER, 2018). Consequentemente, este estado inflamatório sustentado promove a vaso-occlusão por meio da ativação de neutrófilos, plaquetas e células endoteliais (ABODERIN *et al.*, 2023).

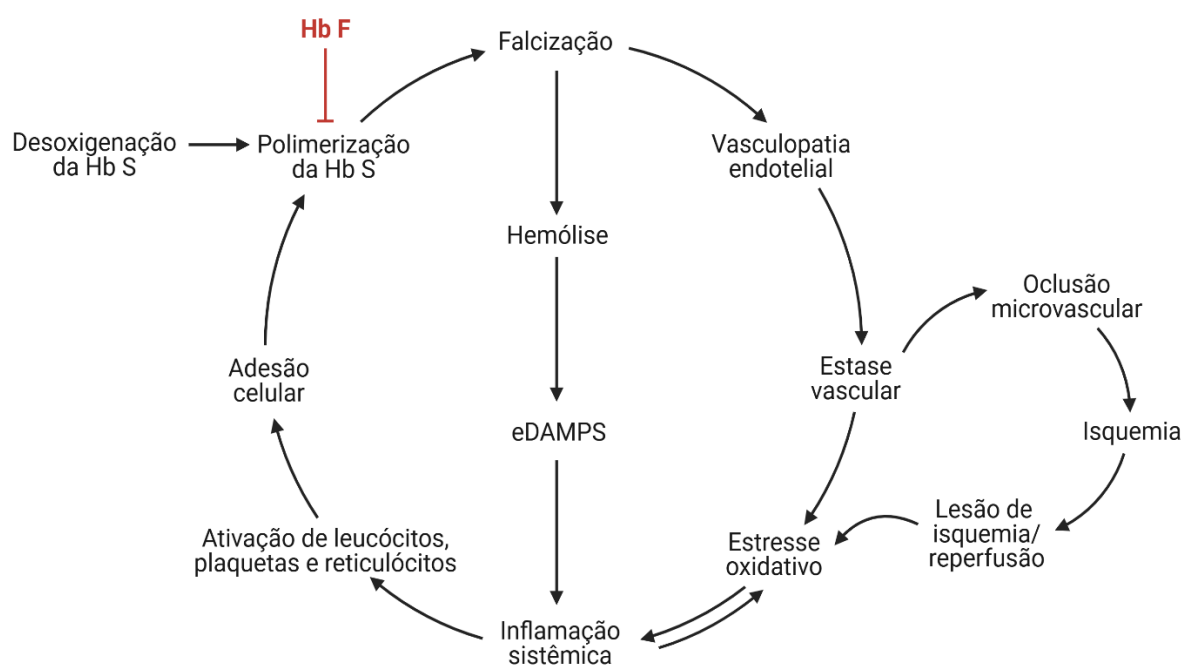
Oclusão microvascular

A probabilidade de ocorrência da vaso-occlusão depende do chamado tempo de atraso entre a desoxigenação e a polimerização da Hb S e da velocidade de fluxo sanguíneo na microcirculação (VELUSWAMY *et al.*, 2019). O tempo de atraso é o intervalo de tempo entre a indução da polimerização pela desoxigenação celular e a formação do polímero de Hb S (FERRONE, 2015; HENRY *et al.*, 2020). Se o tempo de atraso for maior ou se o fluxo sanguíneo for mais rápido, a falcização ocorre em um vaso pós-capilar de diâmetro maior, sendo menos provável a oclusão. Assim,

fatores que diminuem o tempo de atraso ou prolongam o tempo de trânsito eritrocitário na microcirculação, favorecem a falcização enquanto os eritrócitos ainda estão nos capilares, resultando na vaso-oclusão (EATON, 2020; VELUSWAMY *et al.*, 2019). Em geral, todos os fatores descritos em sessões anteriores como a diminuição do NO, adesão celular e inflamação atuam retardando a velocidade de fluxo dos eritrócitos na microcirculação (CONRAN; EMBURY, 2021).

Dessa forma, os eventos vaso-oclusivos na microcirculação, característicos da doença, são um resultado direto da falcização, formação de agregados multicelulares no lúmen dos vasos sanguíneos, da disfunção vascular, e do estado inflamatório crônico, culminando por fim em isquemia, hipóxia e dano tecidual (Figura 7) (LAPOUMEROUILLIE *et al.*, 2019; OFORI-ACQUAH, 2020). Episódios consecutivos de vaso-oclusão e reperfusão sanguínea levam à lesão de isquemia-reperfusão (I/R), um evento crucial no prolongamento do dano vascular e tecidual na AF (Figura 8) (HEBBEL *et al.*, 2020).

Figura 8 - Resumo dos principais eventos que contribuem para a vaso-oclusão na AF. A ocorrência da vaso-oclusão é resultado de um panorama complexo de interação entre inflamação crônica, vasculopatia endotelial, adesão celular, culminando em lesão de isquemia reperfusão (I/R). A I/R por sua vez, promove ainda mais a inflamação retroalimentando o ciclo e favorecendo ainda mais a vaso-oclusão. A hemoglobina fetal (Hb F) aparece como uma importante inibidora dos eventos fisiopatológicos da doença.



Fonte: A autora (2024). Criado usando BioRender.com.

A lesão de I/R promove ainda mais a inflamação pela produção de espécies de oxigênio, aumento da expressão de moléculas de adesão, ativação de leucócitos, com aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias e promoção de eventos trombóticos (HEBBEL, 2014; JANG *et al.*, 2021). Portanto, um importante indutor do eventos vaso-oclusivos é própria vaso-oclusão que se retroalimenta num ciclo vicioso levando a danos constantes na microcirculação e lesão de múltiplos órgãos (Figura 8) (CONRAN; EMBURY, 2021).

2.1.3 Complicações Clínicas

A ocorrência das complicações clínicas na AF muda significativamente de um indivíduo para outro; variando de pacientes sem muitas intercorrências clínicas àqueles com múltiplas complicações ao longo da vida (AZAR; WONG, 2017; BALLAS *et al.*, 2010). Dentre as complicações da doença, as crises vaso-oclusivas (CVO) são as mais prevalentes e aparecem como a principal causa de admissão hospitalar dentre os pacientes com AF (STEINBERG, 1999). Episódios de oclusão de vasos da microcirculação, especialmente em vasos localizados na região medular dos ossos, periósteo e músculos profundos, podem causar infarto tecidual e necrose. Como resultado, o aumento de mediadores inflamatórios leva à ativação de nociceptores que inervam estes tecidos, ocasionando os intensos episódios de dor (ARZOUN *et al.*, 2022; BALLAS *et al.*, 2010).

Algumas complicações da doença possuem um caráter agudo, afetando pontualmente o curso clínico do indivíduo, podendo levar ao óbito. Além da CVO, outras complicações agudas são a síndrome torácica aguda (STA), o acidente vascular cerebral (AVC) e o sequestro esplênico (Tabela 2). Entretanto com o aumento da expectativa de vida, danos isquêmicos progressivos a vários órgãos resultam em complicações de caráter crônico como a osteonecrose ou necrose avascular, as úlceras de perna e a insuficiência renal crônica (Tabela 3) (STEINBERG, 2008; WILLIAMS; THEIN, 2018). Os fatores que determinam a ocorrência e a gravidade das complicações clínicas permanecem parcialmente compreendidos. Assim, a variabilidade clínica da AF tem sido amplamente associada com a influência de diversos fatores, como moduladores genéticos e os níveis de Hb F.

Tabela 2 - Principais complicações clínicas agudas da anemia falciforme.

Complicação	Definição	Mecanismo fisiopatológico	Prevalência	Tratamento	Referência
Crise vaso-oclusiva	Eventos de dor aguda que geralmente afetam as extremidades, tórax e costas	Oclusão de vasos da microcirculação, infarto tecidual, necrose. e ativação de nociceptores locais	Ao longo de toda vida	Hidratação e analgesia Quando necessário, uso de opioides	(UWAEZUOKE <i>et al.</i> , 2018)
Dactilite	Dor, edema, eritema e aumento da temperatura local.	Episódios vaso-oclusivos que afetam pequenos ossos das mãos e dos pés	> 04 anos de idade	Hidratação e analgesia	(JUNIOR <i>et al.</i> , 2012)
Sequestro esplênico	Rápido aumento do volume do baço, com queda dos níveis de hemoglobina (valores em torno de 2g/dL).	Vaso-oclusão nos sinusóides esplênicos, favorecidos pela acidez e hipóxia local, levando ao aprisionamento de eritrócitos no baço	Maior frequência entre 3 meses e 5 anos de idade	Transfusão sanguínea. Esplenectomia	(BROUSSE <i>et al.</i> , 2014)
Síndrome torácica aguda	Presença de novo infiltrado pulmonar evidenciado no raio-X de tórax, junto com febre e sintomas respiratórios.	Multifatorial, vaso-oclusão na vasculatura pulmonar, embolia gordurosa pulmonar, atelectasia e infecções agudas.	Maior incidência entre 2 a 4 anos, podendo ocorrer ao longo da vida	Oxigenação e hidratação, antibioticoterapia e transfusões de hemácias	(DESAI; ATAGA, 2013)
Acidente vascular cerebral	Estenose de artérias cerebrais, resultando em isquemia tecidual, levando a manifestação de sinais e sintomas neurológicos	Vasculopatia de vasos cerebrais, levando a isquemia (infância), ou hemorragia (mais comum na idade adulta)	Risco aumentado nas primeiras décadas de vida. Também afeta adultos	Hidroxiureia (Prevenção) Transfusão sanguínea (HbS < 30% Prevenção)	(LIGHT <i>et al.</i> , 2023)
Priapismo	Ereção peniana prolongada sem estímulo ou desejo sexual	Episódios vaso-oclusivos nos corpos cavernosos associados à disfunção na biodisponibilidade de NO	Aumento da frequência desde a primeira infância	Analgesia hidratação, aspiração e irrigação dos corpos cavernosos e, transfusões	(IDRIS <i>et al.</i> , 2022)

Tabela 3 - Principais complicações clínicas crônicas da anemia falciforme.

Complicação	Definição	Mecanismo fisiopatológico	Prevalência	Tratamento	Referência
Úlcera de perna	Úlceras cutâneas crônicas, mais comumente ao redor das regiões maleolares	Multifatorial: Oclusão vascular, hemólise, infecções, traumas mecânicos, trombose, anemia e disfunção endotelial	Frequência aumenta com a idade	Prevenção, controle da infecção local, desbridamento e curativos de compressão	(MINNITI <i>et al.</i> , 2010)
Osteonecrose	Destruição da superfície articular, principalmente na cabeça do fêmur	Vaso-oclusão e infarto nas superfícies articulares levando a deterioração e desintegração da cartilagem articular.	Frequência aumenta com a idade	Uso de anti-inflamatórios não esteroides, fisioterapia e tratamento cirúrgico	(ADESINA; NEUMAYR, 2019)
Colelitíase	Presença de cálculos na vesícula biliar	A bilirrubina indireta, resultado da hemólise crônica, precipita em contato com o cálcio e se acumula na vesícula biliar	Frequência aumenta com a idade	Colecistectomia para pacientes sintomáticos	(BATISTA <i>et al.</i> , 2021)
Retinopatia	Lesão na vasculatura retiniana, podendo ser não proliferativa ou proliferativa a qual é associada com neovascularização	Vaso-oclusão na microcirculação retiniana	Frequência aumenta com a idade	Fotocoagulação a laser, Injeção de fatores anti crescimento endotelial e vitrectomia	(DESAI; ATAGA, 2013)
Nefropatia	Deterioração da função renal, capacidade de concentração reduzida, proteinúria e insuficiência renal progressiva	Vaso-oclusão, hemólise, estresse oxidativo e hiperfiltração	Frequência aumenta com a idade	Inibidores da ECA e ARBs. Diálise e transplante (Estágio avançado)	(ABDALLA ELSAYED <i>et al.</i> , 2019)
Cardiopatia	Complicações como: disfunção diastólica, arritmia, insuficiência cardíaca, hipertrofia, fibrose e infarto do miocárdio	Resultado de episódios vaso-oclusivos e dano oxidativo no tecido cardíaco e compensação da anemia	Frequência aumenta com a idade	Diuréticos, beta bloqueadores, inibidores da ECA e outros	(GBOTOSHO, O. T. <i>et al.</i> , 2021)

2.3 HEMOGLOBINA FETAL NA ANEMIA FALCIFORME

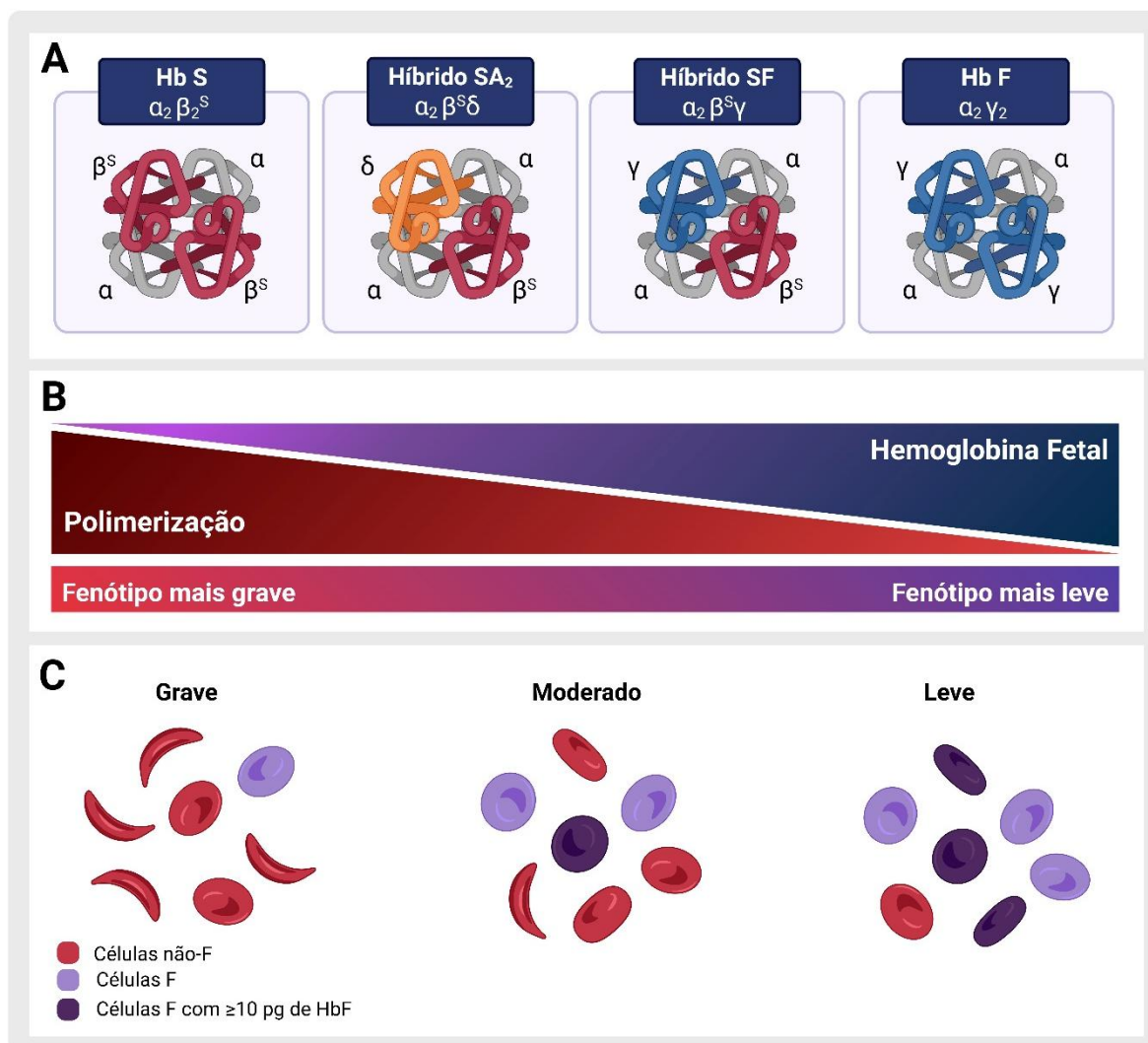
A polimerização da Hb S, fenômeno chave na fisiopatologia AF, depende do grau de desoxigenação da célula e pode ser influenciada pela presença intraeritrocitária de outras Hb, como a Hb F e a Hb A. A Hb F é um importante modulador da fisiopatologia e clínica na AF. Além de diminuir a quantidade intraeritrocitária de Hb S, níveis elevados de Hb F também diminuem drasticamente a polimerização (Figura 9B) (AKINSHEYE *et al.*, 2011; EATON; BUNN, 2017).

O polímero de Hb S é estabilizado por interações hidrofóbicas entre o resíduo $\beta^S\text{val6}$ de uma molécula, com a região hidrofóbica β^S 85-88 de outra molécula de Hb. As cadeias globínicas do tipo γ possuem uma glutamina em vez de uma treonina na posição 87, o que torna esta interação hidrofóbica mais fraca (LETTRE; BAUER, 2016; PAIKARI; SHEEHAN, 2018). O heterotetrâmero $\alpha_2\beta^S\gamma$ que é formado na presença de cadeias globínicas γ é muito mais solúvel que o homotetrâmero da Hb S ($\alpha_2\beta_2^S$). Em solução com a Hb S, nem o tetrâmero de Hb F ($\alpha_2\gamma_2$) nem o tetrâmero híbrido $\alpha_2\beta^S\gamma$ entram na fase polimérica. De forma similar, o híbrido assimétrico $\alpha_2\beta^S\delta$, e a HbA₂ são excluídos do polímero da HbS (Figura 9A). Em contraste, os tetrâmeros híbridos contendo cadeias β^S e β^A têm metade da probabilidade de entrar no polímero comparado com o homotetrâmero da Hb S. Consequentemente, a Hb F tem uma probabilidade muito menor de copolimerizar com a Hb S, mesmo comparado a Hb A (AKINSHEYE *et al.*, 2011; EATON; BUNN, 2017; STEINBERG, 2001; STEINBERG; RODGERS, 2015).

A Hb F prolonga o tempo necessário para a polimerização da Hb S (tempo de atraso), permitindo o escape dos eritrócitos da microcirculação para vasos maiores antes que a falcização ocorra (STEINBERG, Martin H, 2020). Células irreversivelmente falcizadas possuem níveis mais baixos de Hb F (ADEKILE, 2021).

Em pacientes com AF, os níveis de Hb F estão geralmente aumentados, no entanto, a magnitude deste aumento é muito variável e influenciada por fatores genéticos (LETTRE; BAUER, 2016). Em adultos a produção de Hb F é restrita a um pequeno número de precursores eritroides chamadas de células F (ORKIN; HIGGS, 2010; STEINBERG *et al.*, 2014).

Figura 9 - Na AF maiores níveis de hemoglobina fetal (Hb F) são associados a diminuição da polimerização e melhora do quadro clínico. A) Diferentes tetrâmeros de moléculas de hemoglobina. O tetrâmero híbrido ($\alpha_2\beta^S\gamma$) e a Hb F $\alpha_2\gamma_2$ não copolimerizam com a Hb S. B) A polimerização da Hb S é inversamente proporcional a concentração de Hb F. Os níveis de Hb F se correlacionam diretamente com a gravidade da doença. C) A produção de Hb F é restrita a uma população de células chamada de células F. Quanto maior o número de células F e de Hb F por célula F, melhor a clínica do paciente.



Fonte: A autora (2024). Criado usando BioRender.com.

Pacientes com AF possuem 2 tipos de eritrócitos: as células F, que possuem vida mais longa, e altos níveis de Hb F, e células não-F de vida mais curta, que contêm Hb S, mas sem detecção de Hb F (Figura 9C). Na AF a percentagem de células F é mais elevada devido a 2 fatores: aumento da produção em resposta a um estresse eritropoietico e a vantagem de sobrevivência das células F, pela diminuição da polimerização, o que leva a um aumento em seu número relativo à medida que os eritrócitos envelhecem na circulação (FRANCO *et al.*, 2006; STEINBERG, Martin H, 2020). Tanto a distribuição das células F, quanto a concentração de Hb F em cada

célula F é bastante variável. Foi observado que células F com maior quantidade de Hb F sobrevivem por mais tempo do que aquelas com menor quantidade (FRANCO *et al.*, 2006).

A importância dos níveis de Hb F para a fisiopatologia da AF foi inicialmente proposta por Janet Watson, em 1948, quando ela teorizou que os níveis elevados de Hb F observados em recém-nascidos com DF, protegem os indivíduos da falcização e das complicações clínicas até aproximadamente os 6 primeiros meses de vida (WATSON, 1948). Assim, hoje se sabe que indivíduos com AF e altos níveis de Hb F, seja endógeno ou induzido por terapia, geralmente apresentam uma evolução clínica mais branda (PACK-MABIEN; IMRAN, 2013). Altos de níveis de Hb F diminuem a polimerização intracelular da Hb S, a falcização e conseqüentemente reduz eventos relacionados, como a hemólise e a vaso-oclusão (SAAH *et al.*, 2022).

Em camundongos falcêmicos que expressam Hb F foi observado, que os níveis de Hb F estavam relacionados com a diminuição da expressão do fator de transcrição HIF-1 α , com conseqüente aumento da biodisponibilidade de NO, diminuição da inflamação e do estresse oxidativo e melhora nos parâmetros microvasculares e hemodinâmicos (DASGUPTA *et al.*, 2010; KAUL *et al.*, 2013). Em pacientes com AF níveis mais elevados de Hb F foram associados a uma redução da mortalidade e morbidade e menor frequência de diversas complicações clínicas como CVOs, úlceras nas pernas, osteonecrose, síndrome torácica aguda e AVC (AKINSHEYE *et al.*, 2011; BHATNAGAR *et al.*, 2013; DOMINGOS *et al.*, 2020; PERRINE *et al.*, 1978).

Apesar dos benefícios observados, nem todos os indivíduos com AF e altos níveis de Hb F apresentam melhora clínica considerável. Um determinante crítico do efeito da Hb F no fenótipo da doença, é a sua concentração por célula F e sua distribuição entre as células (heterocelular ou pancelular) (HABARA *et al.*, 2017). Foi calculado que poucas células F estão protegidas dos danos induzidos pela polimerização quando os níveis de Hb F são de aproximadamente 5% ou 10%. Um número maior de células F são protegidas quando a Hb F atinge níveis de 20%. Concentrações de Hb F de cerca de 30%, raramente observada em adultos, podem fornecer proteção a mais de 70% das células, impedindo a polimerização completamente a e as complicações da doença (STEINBERG *et al.*, 2014).

Essas previsões são exemplificadas pelo fenótipo resultante da heterozigose

composta para Hb S e persistência hereditária de Hb F (PHHF). Nessa situação grandes deleções removem parte do gene *HBB* levando a um aumento compensatório da expressão dos genes *HBG*. O heterozigoto composto S-PHHF, apresenta Hb S e distribuição pancelular de aproximadamente 10 pg de Hb F (30%) em cada eritrócito, resultando em uma inibição quase completa da polimerização da Hb S, e raras complicações da doença (BUCHANAN, 2014; STEINBERG *et al.*, 2014).

Portanto, segundo as previsões de Steinberg e colaboradores, se a distribuição da Hb F for pancelular e se níveis totais de Hb F de 30% puderem ser alcançados, então uma cura farmacológica para a maioria das complicações da doença poderá ser alcançada. Dessa forma, considerando o potencial terapêutico da Hb F, muitas abordagens visam aumentar a expressão de Hb F e o número total de células F com quantidade de Hb F suficiente para neutralizar a falcização (STEINBERG *et al.*, 2014).

2.3.1 Terapias baseadas na indução da Hb F para tratamento da AF

O único tratamento potencialmente curativo atualmente disponível para a AF é o transplante de medula óssea, embora seu uso seja restrito pelo alto custo, toxicidade e disponibilidade limitada de doadores adequados (PIEL *et al.*, 2017). Nesse contexto a terapia farmacológica representa a melhor alternativa para amenizar a lesão tecidual e dano progressivo a órgãos na AF. As opções farmacológicas atuais na DF para indução da expressão de Hb F têm como alvo tanto a indução da produção de células que sintetizam grandes quantidades de Hb F (células F) (por exemplo, hidroxiureia), quanto a inibição de mecanismos epigenéticos de silenciamento da γ globina (por exemplo, decitabina e butiratos) (TROMPETER; ROBERTS, 2009).

Hidroxiureia (Hidroxicarbamida)

A hidroxiuréia (HU), ou Hidroxicarbamida é um agente citostático, que teve seu uso aprovado pela FDA (*Food and Drug Administration*) em 1998 para tratamento da DF, em adultos e em 2017 para tratamento de pacientes com idade igual ou superior a 2 anos. A HU foi a primeira droga aprovada e até hoje segue sendo a principal opção farmacológica para pacientes com DF (PAIKARI; SHEEHAN, 2018). No Brasil, o Ministério da Saúde, aprovou o uso de HU para pacientes com DF em 2002. Em 2024,

uma atualização do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da DF, estabeleceu uso da HU a partir dos 9 meses de idade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024). A dose inicial recomendada de HU é 15 mg/kg/dia, por via oral, em dose única, com aumento progressivo de 5 mg/kg/dia a cada 4 semanas até atingir a dose máxima de 35 mg/kg/dia ou a ocorrência de efeitos adversos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024).

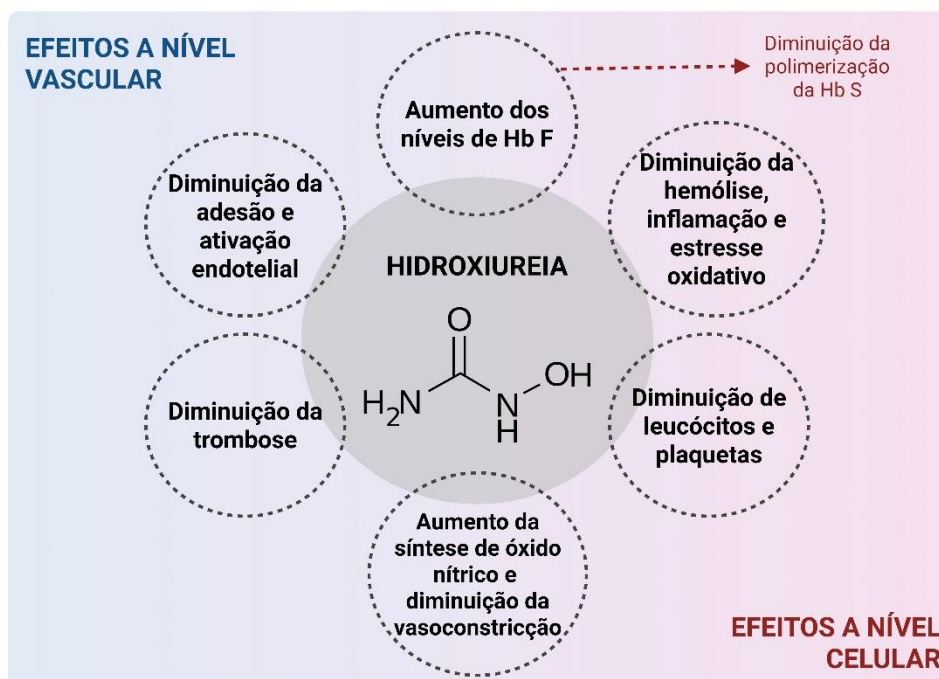
O principal benefício atribuído ao uso da HU na DF é o aumento dos níveis de Hb F (PLATT, 2008). A HU leva ao aumento da síntese de Hb F e produção de células F, por meio de mecanismos poucos esclarecidos. Estudos mostram que o efeito citotóxico intermitente da HU na medula óssea leva à redução da produção de eritrócitos contendo níveis elevados de Hb S, originados de precursores que se dividem rapidamente, e devido ao estresse eritropoietico, favorece a produção de eritrócitos contendo níveis elevados de Hb F (células F), que surgem de progenitores que se dividem menos rapidamente (QURESHI *et al.*, 2018; WALKER *et al.*, 2022). Outro mecanismo proposto para a indução de Hb F pela HU, envolve a conversão da HU em NO e estímulo da via da guanilato ciclase solúvel e da proteína quinase dependente de cGMP que induzem a expressão da Hb F (MCGANN; WARE, 2015).

A administração da HU em pacientes com AF possui múltiplos benefícios, incluindo alguns não relacionados com a indução da síntese de Hb F, como o aumento na concentração de Hb total e redução da taxa de hemólise (BOU-FAKHREDIN *et al.*, 2022; STEINBERG, Martin H, 2020). O uso desse fármaco também melhora a deformabilidade dos eritrócitos, reduz a fração de células falcizadas e está associado a melhorias na reologia e na sobrevivência dos eritrócitos, além de limitar a ativação endotelial, adesão celular e reduzir os números de leucócitos circulantes, reticulócitos e plaquetas (Figura 10) (CARTRON; ELION, 2008; NADER *et al.*, 2018).

Em pacientes com AF, a HU reduz a frequência de CVOs, a necessidade transfusional e as hospitalizações dos pacientes, além de diminuir a taxa de mortalidade em aproximadamente 40%, quando utilizada por pelo menos um ano (CHARACHE *et al.*, 1995; LANZKRON *et al.*, 2008; STEINBERG *et al.*, 1997; STROUSE *et al.*, 2008). Além disso, o uso do HU é indicado para a prevenção primária e secundária de AVC (QURESHI *et al.*, 2018; WARE *et al.*, 2016). Apesar dos benefícios, alguns indivíduos não respondem adequadamente ao tratamento, e por ser um agente citotóxico a terapia com HU possui alguns efeitos adversos, como leucopenia e plaquetopenia, que podem predispor os pacientes a infecções e

sangramentos (PLATT, 2008; QURESHI *et al.*, 2018). Por este motivo, os pacientes precisam ser monitorados periodicamente para avaliar parâmetros hematológicos, função hepática e renal (PLATT, 2008).

Figura 10 - Efeitos a nível vascular e celular do tratamento com hidroxureia (HU) na anemia falciforme.



Fonte: A autora (2024). Criado usando BioRender.com.

Outros agentes farmacológicos indutores da Hb F

Nem todos os pacientes tratados com HU respondem ao tratamento, e entre aqueles que respondem, o aumento dos níveis da Hb F é variável, sugerindo a necessidade de identificação de agentes adicionais capazes de induzir a Hb F e ampliar sua distribuição celular (AKINSHEYE *et al.*, 2011). Assim, a indução farmacológica da Hb F também foi investigada com outros agentes quimioterápicos, particularmente a 5-azacitidina e a 5-aza-2-desoxicitidina (decitabina), e com ácidos graxos de cadeia curta como butirato de arginina e fenilbutirato de sódio (PERRINE *et al.*, 2014).

Os inibidores da DNA metiltransferase (DNMT), como 5-azacitidina e decitabina, reativam a expressão dos genes da γ globina (*HBG*) por meio da indução da hipometilação do DNA (LAVELLE *et al.*, 2018). A 5-azacitidina foi inicialmente estudada e utilizada na DF, mas foi rapidamente abandonada devido ao seu perfil de

toxicidade e possível risco de carcinogênese (PAIKARI; SHEEHAN, 2018). A decitabina, um análogo da 5-azacitidina, também é um potente inibidor da DNMT1 que possui um perfil de segurança mais favorável, e se mostrou mais eficaz quando usado em dose baixa em regime regular e intermitente (BOU-FAKHREDIN *et al.*, 2022). Estudos na DF sugeriram que a decitabina pode aumentar substancialmente os níveis de Hb F e Hb total (SAUNTHARARAJAH *et al.*, 2008).

Os inibidores da histona desacetilase (HDAC) também têm sido considerados alvos terapêuticos para a indução de Hb F. O primeiro agente inibidor de HDAC testado na DF foi o ácido graxo de cadeia curta, butirato de arginina (PERRINE *et al.*, 2014). Em estudo experimental, o butirato foi associado com aumento nos níveis de Hb F, mediado por um aumento na eficiência da tradução do mRNA da γ globina (WEINBERG *et al.*, 2005). Ensaio clínico em pacientes com β hemoglobinopatias, mostraram que a administração de butirato de arginina e do fenilbutirato de sódio aumentaram os níveis de Hb F (ATWEH *et al.*, 1999; BOU-FAKHREDIN *et al.*, 2022).

Essas opções farmacológicas ainda se encontram na fase de estudos clínicos de fase 1 ou 2. Além disso, vários outros medicamentos estão atualmente sob investigação quanto aos seus efeitos na produção de Hb F incluindo a metformina, derivados da talidomida, angelicina, mitramicina e outros, todos os quais demonstram atividade promissora *in vitro* (LAVELLE *et al.*, 2018; PAIKARI; SHEEHAN, 2018; VENKATESAN *et al.*, 2021).

Terapia gênica para indução da Hb F na AF

O potencial da terapia gênica tem sido amplamente explorado como opção curativa para a AF. Uma vez que a terapia gênica consiste em uma abordagem autóloga, seu uso evita os riscos inerentes ao transplante de medula óssea alôgenico, como a rejeição do enxerto e doença do enxerto contra hospedeiro (ABRAHAM; TISDALE, 2021). A terapia celular focada na indução Hb F, envolve tanto a reativação do gene da γ globina, aumentando a expressão de Hb F quanto a reversão do silenciamento dos genes *HBG*, restringindo a expressão dos repressores da Hb F (especialmente o BCL11A) ou interrompendo seus motivos de ligação nos promotores dos genes *HBG* (HARDOUIN *et al.*, 2023; STEINBERG, Martin H, 2020).

Vetores lentivirais foram desenvolvidos com o objetivo de inserir genes da γ globina em células-tronco hematopoiéticas para aumentar os níveis de Hb F e reduzir a falcização. Resultados preliminares de um ensaio clínico de fase 1/2 em dois pacientes com AF transduzidos com vetor de lentivírus modificado com a γ globina mostraram aumento dos níveis de Hb F e Hb total (ABRAHAM; TISDALE, 2021). Outra abordagem com vetor lentiviral, mostrou que um vetor que codifica um *short hairpin RNA* direcionado para o silenciamento específico na linhagem eritroide do mRNA do *BCL11A*, reduz a sua expressão levando ao aumento significativo de Hb F total e Hb F por célula F, além de redução dos sinais e sintomas de pacientes com AF (ESRICK *et al.*, 2021).

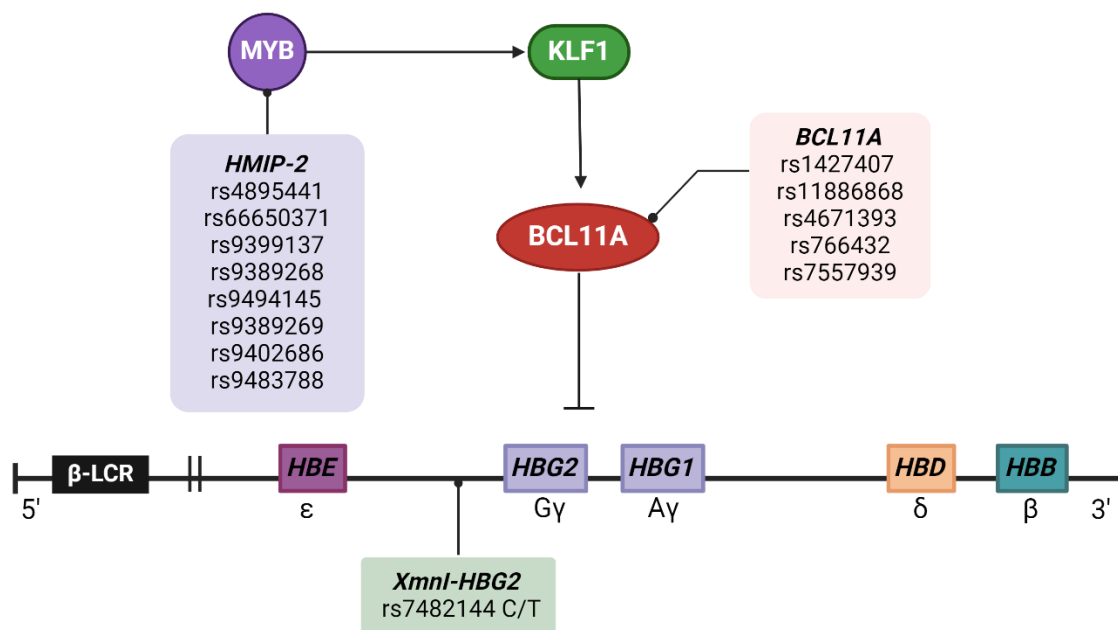
Abordagens recentes com técnicas edição genética especialmente utilizando o CRISPR-Cas9, tem mostrado eficiência tanto na correção da mutação β^S , quanto na indução da Hb F na AF (MAYURANATHAN *et al.*, 2023). Para indução da Hb F uma estratégia é usar o CRISPR-Cas9 para editar a região acentuadora do *BCL11A*, diminuindo sua expressão em células eritroides. Ao invés do *knockdown* completo da *BCL11A*, outras abordagens são focadas na deleção das sequências de ligação do *BCL11A* na região promotora dos genes *HBG* (LAMSFUS-CALLE *et al.*, 2020). Além disso, outra estratégia sob investigação é a introdução de mutações nos promotores dos genes *HBG*, a fim de simular o efeito de mutações que causam a PHHF (SHARMA *et al.*, 2023). Por fim, o uso da terapia gênica tem pavimentado o caminho para a cura ou melhora permanente de forma eficiente na AF. Apesar disso, muitos desafios e limitações ainda impõem a necessidade de melhorias para ampliar a acessibilidade e segurança da técnica (STEINBERG, 2022).

2.3.2 Moduladores genéticos dos níveis de Hb F

Variações nos níveis de Hb F em pacientes com DF tem sido atribuídas a co-herança de variantes genéticas que podem potencialmente afetar regiões regulatórias no *cluster* beta (THEIN; MENZEL, 2009). Os moduladores genéticos descritos, incluindo polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e *loci* de características quantitativas (QTL), que alteram os níveis basais de Hb F e melhoram a gravidade clínica, são principalmente a variante *XmnI/HBG2* (11p15.4) na região promotora do

gene *HBG2* e QTLs na região intergênica *HBS1L-MYB* (6q23.3) e *BCL11A* (2p16.1) (Figura 11) (MOHAMMAD *et al.*, 2022).

Figura 11 - Principais variantes genéticas associadas com variações nos níveis de hemoglobina fetal. Os principais moduladores associados são a variante *XmnI/HBG2* na região promotora do gene *HBG2* e QTLs na região intergênica *HBS1L-MYB*, principalmente HMIP-2 (polimorfismos na região intergênica dos genes *HBS1L-MYB*, bloco 2) e no *BCL11A*.



Fonte: A autora (2024). Criado usando BioRender.com.

Haplótipos da globina β^S

Após o surgimento da mutação β^S foi postulado que haplótipos, ou sítios polimórficos no *cluster* beta, surgiram e posteriormente se diversificaram, levando a formação de 5 padrões clássicos. Os haplótipos estão em forte desequilíbrio de ligação com a mutação β^S e foram nomeados de acordo com sua origem étnica e geográfica, são eles: Benin (BEN), Bantu ou República Central Africana (BAN ou CAR), Senegal (SEN), Camarões (CAM), Árabe-Indiano ou Saudi-Árabe (ARB ou SAU), além de haplótipos sem padrão definido, chamados de atípicos (LINDENAU *et al.*, 2016; SERJEANT *et al.*, 2017). Dessa forma, sugeriu-se que a mutação que originou a Hb S tenha ocorrido independentemente em cinco regiões distintas e se espalhou devido a pressões seletivas (BITOUNGUI *et al.*, 2015; PAGNIER *et al.*, 1984).

Os haplótipos da globina β^S estão associados com diferentes níveis de Hb F (ARB>SEN>BEN>CAR), possivelmente mediado por variantes polimórficas na região promotora do gene da γ globina (QUINN; MILLER, 2004). Indivíduos com AF e haplótipo SEN (Hb F média ~10%) ou ARB (Hb F média ~20%) apresentam maiores níveis de Hb F, tendendo a apresentar uma forma clínica menos grave da doença; por outro lado pacientes que apresentam haplótipo CAR (média Hb F <5%) tendem a desenvolver um quadro clínico mais grave, pois cursam com níveis diminuídos de Hb F. Por fim, pacientes que possuem o haplótipo BEN (média Hb F ~7%) e CAM (média Hb F ~7%) apresentam quadros clínicos intermediários ou graves se herdados em heterozigose com haplótipo CAR (HABARA *et al.*, 2017; SERJEANT *et al.*, 2017; STUART; NAGEL, 2014).

Os altos níveis de Hb F nos indivíduos portadores dos haplótipos SEN e ARB, têm sido fortemente associados com o SNP rs7482144 C/T (MOHAMMAD *et al.*, 2022). Localizado no promotor do gene *HBG2* a 158 pb no sítio de início da transcrição, o rs7482144 cria um sítio de restrição para a enzima *XmnI* (Figura 11) (HABARA *et al.*, 2017). Além de afetar os níveis de HbF, a variante *XmnI-HBG2* tem sido associada com melhor resposta ao tratamento com HU em pacientes com DF (ADEKILE *et al.*, 2015). Embora cada haplótipo esteja associado a um nível médio distinto de Hb F, é observada ampla variação dentro de cada grupo, sugerindo a influência de outros QLT modulando a expressão da gama globina (AKINSHEYE *et al.*, 2011).

Locis de Características Quantitativas (QTL)

Variantes associadas com os níveis de Hb F, situadas em regiões intrônicas do gene do fator de transcrição hematopoiético *BCL11A*, foram descobertas pela primeira vez por meio de estudos com GWAS. Uma das principais variantes relatadas no *BCL11A* é o rs1427407 (G/T) que afeta uma sequência regulatória chave para a expressão do *BCL11A* (MENZEL *et al.*, 2007; UDA *et al.*, 2008). Esta variante tem significado funcional e é causal para grande parte da associação entre os níveis de Hb F com outros marcadores intimamente ligados na região, como rs11886868, rs4671393, rs766432 ou rs7557939 (Figura 11) (MENZEL; THEIN, 2019). Esses SNPs

estão localizados no íntron 2 do *BCL11A*, que é uma região próxima a vários locais de HS, indicando atividade transcricional ativa (SALES *et al.*, 2022b).

Estudos de associação com pacientes com AF em diversas populações mostraram associação de variantes em *BCL11A* com os níveis de Hb F, resposta à HU e severidade clínica da doença (CHAOUCH *et al.*, 2016; LEONARDO *et al.*, 2016; LETTRE *et al.*, 2008; UPADHYE *et al.*, 2016) .

Polimorfismos na região intergênica dos genes *HBS1L-MYB* (HMIP, do inglês *HBS1L-MYB intergenic polymorphisms*) também foram identificados como modificadores significativos dos níveis de Hb F por estudos GWAS (THEIN *et al.*, 2007). A região *HBS1L-MYB* é conhecida por conter vários QTLs associados aos níveis de Hb F e se divide em vários blocos polimórficos: HMIP-1, HMIP-2 e HMIP-3 (MENZEL; THEIN, 2019; SALES *et al.*, 2022b). Variantes no bloco HMIP-2 mostraram uma maior relação com os níveis de Hb F na AF como: rs4895441, rs66650371, rs9399137, rs9389268, rs9494145, rs9389269, rs9402686, rs9483788 (MENZEL *et al.*, 2014) (Figura 11). Dessa forma esses moduladores genéticos explicam uma parte da variação da Hb F na AF, deixando grande parte da variação inexplicada.

Aliado a isso, 10-25% de pacientes que fazem uso da principal terapia farmacológica na AF, a HU, não parecem beneficiar da terapia, estimulando a investigação de outros agentes. A determinação de fatores moleculares que estão envolvidos direta ou indiretamente no silenciamento da γ -globina pode fornecer novas perspectivas na regulação desse mecanismo, ajudando eventualmente no desenvolvimento terapêutico (HARIHARAN; NADKARNI, 2021). Além do cuidadoso exame clínico e hematológico, extensa análise genômica e transcriptômica pode ajudar a definir moduladores dos níveis de Hb F anteriormente não caracterizados (STEINBERG, Martin H., 2020).

2.3.3 Estudos de sequenciamento do RNA (RNAseq) na anemia falciforme

A metodologia de sequenciamento total do transcriptoma (RNAseq) é uma abordagem que permite uma avaliação ampla do perfil transcricional celular, mostrando os genes diferencialmente expressos e transcritos alternativos de um mesmo gene que possam estar relacionados a um desfecho específico. Diversos estudos com AF, tem empregado o uso do RNAseq para a investigação de

mecanismos e vias fisiopatológicas, como por exemplo perfil transcricional de indivíduos com AF durante episódios de CVO e STA (ABDULWAHAB *et al.*, 2021; C.REARY *et al.*, 2020), o transcriptoma de tecido placentário (BAPTISTA *et al.*, 2020), o perfil de expressão de células progenitoras endoteliais em pacientes com retinopatia proliferativa (BERTOZZO *et al.*, 2023) e outros (GEE *et al.*, 2022).

Além disso, o RNAseq também tem sido empregado para investigar mecanismos relacionados com a modulação dos níveis de HbF. Roversi e cols., 2013, avaliaram, pela metodologia de hibridização subtrativa supressiva, genes associados com os altos níveis de Hb F em indivíduos com persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF); Flanagan e cols., 2011, avaliaram, por microarranjo, a expressão diferencial entre indivíduos AF antes e após o tratamento com HU; Petruzzelli e cols., 2010 estudaram em indivíduos com talassemia beta os genes diferencialmente expressos entre aqueles que apresentavam níveis mais altos e mais baixos de Hb F (FLANAGAN *et al.*, 2012; PETRUZZELLI *et al.*, 2010; ROVERSI *et al.*, 2013).

Nesse contexto, a análise do perfil transcricional de reticulócitos por meio da metodologia de RNAseq apresenta-se como uma abordagem promissora para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos na regulação da expressão basal de HbF em indivíduos adultos com AF. Ao permitir a identificação de genes diferencialmente expressos e vias regulatórias associadas, essa estratégia pode contribuir significativamente para a compreensão das bases biológicas que determinam a variabilidade nos níveis de HbF, ampliando o conhecimento sobre a fisiopatologia da doença e apontando possíveis alvos terapêuticos.

3 ARTIGO 1 – Variantes nos genes *BCL11A* e *HBS1L-MYB* como preditores dos níveis de hemoglobina fetal e da gravidade clínica na anemia falciforme

Gabriela S Arcanjo¹, Alexsandro P Silva¹, Madi V Diniz¹, Igor F Domingos², Diego A Pereira-Martins³, Amanda B Araújo¹, Talita S Sena¹; Ana C Anjos^{1,4}, Aderson S Araújo⁴, Sara O Saad⁵, Fernando F Costa⁵, Antonio R Lucena-Araujo¹, Marcos André C Bezerra¹

Afiliações:

¹Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil;

²Pronto Socorro Cardiológico de Pernambuco, Universidade de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil;

³Departamento de Hematologia, Centro de Pesquisa do Câncer de Groningen, Centro Médico Universitário de Groningen, Universidade de Groningen, Groningen, Holanda;

⁴Departamento de Clínica Médica, Hematologia e Fundação Hemoterapia de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil;

⁵Centro de Hematologia e Hemoterapia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil

Autor correspondente: Marcos AC Bezerra. Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Recife, PE 50670-901, Brasil. Tel: +55(81)2126-7825. Fax: +55(81)2126-7825

E-mail: macbezerra.ufpe@gmail.com

RESUMO

Indivíduos com anemia falciforme (AF) apresentam significativa heterogeneidade clínica, influenciada por modificadores genéticos. A hemoglobina fetal (HbF) é um fator protetor bem estabelecido na literatura, associado a um curso clínico mais brando na AF. Variações nos níveis de HbF na idade adulta têm sido atribuídas à co-herança de variantes genéticas que afetam os principais reguladores da globina gama. Neste contexto, este estudo investigou a associação de polimorfismos nos genes *BCL11A* (rs4671393, rs1427407, rs11886868) e *HBS1L-MYB* (rs9399137) com os níveis de HbF e complicações clínicas em uma coorte de 409 pacientes brasileiros com AF. Nossos achados revelam que os genótipos variantes de rs4671393, rs1427407, rs11886868 e rs9399137 estão significativamente associados a níveis mais elevados de HbF. Além disso, análises de regressão indicaram que os genótipos ancestrais desses polimorfismos estão independentemente associados a um risco aumentado de acidente vascular cerebral, osteonecrose, úlceras de perna, priapismo e síndrome torácica aguda. A análise de incidência cumulativa confirmou que pacientes portadores de genótipos de alto risco apresentam maior incidência dessas complicações ao longo do tempo. Um escore de risco genético (GRS), combinando essas variantes, mostrou-se significativamente associado aos níveis de HbF ($p < 0,001$), sendo que um GRS mais elevado esteve relacionado a concentrações mais baixas de HbF. Adicionalmente, um GRS aumentado foi significativamente associado a um maior risco de complicações clínicas ($p < 0,001$), indicando que cada alelo de risco adicional contribui para a gravidade da doença. Esses resultados sugerem que a combinação de variantes associadas ao risco contribui para níveis reduzidos de HbF e maior suscetibilidade a complicações relacionadas à AF. Este estudo ressalta a relevância clínica das variantes genéticas associadas à HbF na modulação da gravidade da doença, destacando seu potencial para a estratificação de risco e o tratamento personalizado na AF.

Palavras-chave: HMIP; rs11886868; rs1427407; rs4671393; rs9399137; Doença falciforme.

INTRODUÇÃO

A anemia falciforme (AF) é uma doença genética caracterizada pela falcização dos eritrócitos, hemólise crônica, oclusão microvascular e dano progressivo aos órgãos, levando a alta morbidade e mortalidade (1). A gravidade do fenótipo clínico varia amplamente entre os indivíduos e é influenciada por múltiplos fatores, sendo a hemoglobina fetal (HbF) um dos determinantes mais críticos. Níveis elevados de HbF têm sido consistentemente associados à redução da polimerização da hemoglobina, diminuição da hemólise e menores taxas de crises vaso-oclusivas e danos aos órgãos na AF (2,3). Conseqüentemente, a HbF é considerada um importante fator de proteção na doença, e sua modulação continua sendo um alvo terapêutico fundamental para melhorar os resultados clínicos em hemoglobinopatias (4).

A HbF ($\alpha_2\gamma_2$) é um tetrâmero formado pela expressão dos genes *HBG1* e *HBG2* (gama-globina) durante o estágio fetal do desenvolvimento humano. Perto do nascimento, a expressão dos genes HBG é progressivamente regulada negativamente, levando à transição da produção de HbF para hemoglobinas do adulto (HbA e HbA2) (5). A repressão da HbF é alcançada por meio de uma rede complexa de reguladores transcricionais eritroides específicos, mediados principalmente por *BCL11A*, *KLF1* e *cMYB*, entre outros, que interagem para formar um complexo repressor que silencia a expressão da gama globina (5,6).

Na fase adulta, variações nos níveis de HbF entre indivíduos com AF tem sido atribuídas à co-herança de variantes genéticas que afetam os genes dos principais reguladores da globina gama (7). Vários modificadores genéticos, incluindo polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e *loci* de características quantitativas (QTLs), foram identificados como os principais determinantes dos níveis de HbF. Entre estes, a variante *XmnI/HBG2* (11p15.4) na região promotora do gene *HBG2*, bem como QTLs no gene *BCL11A* (2p16.1) e na região intergênica de *HBS1L-MYB* (6q23.3), foram fortemente associados a níveis elevados de HbF, curso clínico mais brando e resposta terapêutica na AF (8–11).

Variantes genéticas associadas aos níveis de HbF no gene do fator de transcrição hematopoiético *BCL11A*, foram identificadas pela primeira vez por meio de estudos de associação ampla do genoma (GWAS) (12,13). Vários SNPs funcionais, incluindo rs4671393, rs1427407 e rs11886868, estão localizados no íntron

2 do *BCL11A*, uma região enriquecida com sítios hipersensíveis (HS), sugerindo seu papel na regulação transcricional (7). Além disso, polimorfismos na região intergênica *HBS1L-MYB* foram reconhecidos como modificadores significativos dos níveis de HbF por meio de GWAS (14). Esta região contém múltiplos QTLs fortemente associados à expressão de HbF, com variantes como rs9399137, mostrando uma correlação particularmente forte com os níveis de HbF (15,16). Dado o papel fundamental desses fatores genéticos na modulação da expressão de HbF e na influência da gravidade da doença, este estudo teve como objetivo investigar a associação das variantes nos genes *BCL11A* e *HBS1L-MYB* com os níveis de HbF e o fenótipo clínico de pacientes com AF acompanhados em um centro de referência no nordeste do Brasil.

MÉTODOS

Pacientes

Este estudo incluiu 409 pacientes adultos não relacionados com AF, todos acompanhados regularmente em um centro de referência no nordeste do Brasil. A mutação da hemoglobina S em homozigose foi confirmada por análise de restrição de um fragmento amplificado por PCR do gene da beta-globina (*HBB*) usando a enzima *DdeI* (PCR-RFLP), bem como por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) de troca catiônica (Variant IITM, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA). Dados clínicos e laboratoriais foram obtidos retrospectivamente dos prontuários médicos dos pacientes. Parâmetros laboratoriais basais foram avaliados durante períodos sem tratamento para pacientes que receberam intervenções clínicas, como terapia com hidroxiureia ou transfusões crônicas de sangue.

O estudo foi aprovado pelo conselho local de ética em pesquisa local (CAAE: 42396621.0.3001.5195). O consentimento informado por escrito foi obtido de todos os participantes antes do início do estudo. Os pacientes foram classificados em subgrupos com base na presença de complicações clínicas, incluindo acidente vascular cerebral, osteonecrose, úlceras de perna (UMs), priapismo e síndrome torácica aguda (STA). A ocorrência dessas complicações foi determinada a partir dos prontuários médicos e exames de imagem, quando aplicável. O grupo de controle consistiu em pacientes com AF com mais de 18 anos de idade que não desenvolveram nenhuma das cinco principais complicações no momento da censura do estudo.

Dados moleculares

Amostras de sangue periférico foram coletadas em tubos contendo EDTA como anticoagulante. O DNA foi extraído dos leucócitos usando o método padrão de extração de fenol-clorofórmio (17). Quatro polimorfismos de nucleotídeo único foram selecionados para genotipagem: três SNPs no gene *BCL11A* (rs4671393, rs1427407 e rs11886868) e um SNP na região intergênica *HBS1L-MYB* (rs9399137). Esses SNPs foram escolhidos com base na frequência de alelo mínimo (MAF) em populações africanas (YRI) e caucasianas (CEU). A genotipagem foi realizada usando PCR em tempo real com sondas TaqMan®, seguindo as instruções do fabricante. Além disso, os haplótipos do cluster da globina β S foram determinados conforme descrito anteriormente (18).

Análises estatísticas

As características basais dos pacientes foram analisadas usando estatísticas descritivas. O equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada SNP foi avaliado usando o teste qui-quadrado. As comparações entre variáveis categóricas foram conduzidas usando o teste exato de Fisher e o teste qui-quadrado, enquanto as variáveis contínuas foram analisadas usando os testes não paramétricos de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, seguidos pelo pós-teste de comparações múltiplas de Dunn, quando necessário. Os valores de p foram ajustados usando o método de Benjamini-Hochberg.

Para explorar a relação entre variantes genéticas e complicações clínicas, análises de regressão logística univariada foram realizadas para cada SNP, avaliando seu papel potencial como preditores de complicações individuais. A regressão logística multivariada foi subsequentemente conduzida para determinar se esses fatores genéticos permaneceram independentemente associados aos desfechos clínicos após o ajuste para potenciais fatores de confusão, incluindo sexo, idade e o número de crises vaso-oclusivas (CVOs) por ano. A força das associações foi expressa como odds ratios (ORs) com intervalos de confiança (ICs) de 95% correspondentes, com significância estatística definida em $p < 0,05$.

Para avaliar o risco de longo prazo de desenvolvimento das complicações, curvas de incidência cumulativa foram construídas usando o método de Kaplan-Meier, e as diferenças entre as curvas foram comparadas usando o teste de *log-rank*.

Modelos de regressão de riscos proporcionais de Cox também foram aplicados para identificar fatores prognósticos que influenciam o risco de complicações ao longo do tempo, fornecendo razões de risco (HRs) e ICs de 95% para quantificar o impacto de cada preditor.

Um escore de risco genético (GRS) foi construído para integrar o efeito cumulativo de variantes genéticas com as complicações da doença. Este escore foi calculado somando o número de alelos de risco presentes nos quatro SNPs avaliados no estudo. Cada SNP recebeu um escore com base no genótipo: 2 pontos para alelos de risco em homozigose, 1 ponto para heterozigotos e 0 pontos para alelos sem risco em homozigose (alelo associado com altos níveis de HbF). O GRS resultante variou de 0 a 8, com escores mais altos indicando uma maior carga genética de alelos de risco. Esta abordagem permitiu uma avaliação abrangente da predisposição genética ao considerar os efeitos combinados de múltiplos loci. A associação entre o GRS, os níveis de HbF e o risco de complicações foi avaliada usando modelos de regressão ajustados para idade e sexo. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o SPSS Statistics 19.0 (IBM Corporation, Somers, NY, EUA) e o software R (The CRAN project, www.r-project.org).

RESULTADOS

Caracterização dos pacientes

A coorte incluiu 409 pacientes com AF (idade média de 34 anos, com 215 mulheres (52,6%)), dos quais 261 (63,8%) desenvolveram pelo menos uma das cinco complicações clínicas estudadas e foram posteriormente designados como pacientes sintomáticos. No geral, 60 (15%) pacientes desenvolveram acidente vascular cerebral; 66 (16%) desenvolveram osteonecrose; 96 (23%) apresentaram úlceras maleolares; 62 (32%) homens apresentaram priapismo; e 69 (17%) pacientes tiveram síndrome torácica aguda (STA). Um total de 148 pacientes foram designados para o grupo controle (para priapismo, 47 homens). Pacientes sintomáticos foram agrupados para análises descritivas com o grupo controle. Os dados clínicos e laboratoriais basais são descritos em detalhes na Tabela 1.

Observamos que pacientes sintomáticos apresentavam uma proporção maior de episódios de crise vaso-oclusiva (CVO) que exigiram hospitalização ($p = 0,005$),

níveis mais baixos de hemoglobina fetal (Hb F) ($p < 0,001$), contagens reduzidas de hemácias ($p = 0,047$) e níveis reduzidos de hemoglobina ($p = 0,045$), bem como níveis elevados de lactato desidrogenase (LDH) ($p = 0,037$), em comparação ao grupo controle.

Todos os pacientes foram genotipados para os polimorfismos *BCL11A* rs4671393, *BCL11A* rs1427407, *BCL11A* rs11886868 e *HBS1L-MYB* rs9399137. A análise de associação revelou associações significativas entre rs4671393 ($p = 0,029$), rs1427407 ($p = 0,008$) e rs9399137 ($p = 0,002$) com o grupo sintomático.

Variantes de BCL11A e HBS1L-MYB e níveis de hemoglobina fetal

A associação entre as variantes genéticas (rs4671393, rs1427407, rs11886868 e rs9399137) e os níveis de HbF foi avaliada usando o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste *post-hoc* de Dunn. O teste de Kruskal-Wallis revelou diferenças estatisticamente significativas nos níveis de HbF entre os genótipos para todas as quatro variantes (Figura 1). Para o polimorfismo rs4671393, um efeito significativo do genótipo nos níveis de HbF foi observado ($H(2) = 12,2$, $p = 0,002$). Os valores medianos de HbF foram 5,9% em indivíduos GG, 8,0% em GA e 9,25% em AA. Análises *post-hoc* mostraram que a comparação GA vs. GG foi estatisticamente significativa ($p = 0,005$), sugerindo que indivíduos com o genótipo GG têm níveis mais baixos de HbF em comparação com portadores heterozigotos (Figura 1A).

Para a variante rs1427407, um efeito genotípico significativo foi observado ($H(2) = 15,95$, $P < 0,001$). Os valores medianos de HbF foram 5,9% para GG, 8,4% para GT e 8,9% para TT. A análise *post-hoc* de Dunn indicou que a comparação GG vs. GT foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$) (Figura 1B). Para o polimorfismo rs11886868, também houve diferenças significativas nos níveis de HbF entre os genótipos ($H(2) = 10,299$, $p = 0,005$). Os valores medianos de HbF foram 5,8% em indivíduos TT, 7,1% em TC e 9,3% em portadores de CC. O teste *post-hoc* de Dunn mostrou uma diferença significativa entre os genótipos CC e TT ($p = 0,004$) (Figura 1C). Finalmente, para a variante rs9399137, uma forte associação entre os genótipos e os níveis de HbF foi observada ($H(2) = 31,049$, $p < 0,001$). Indivíduos com o genótipo CC apresentaram a maior mediana de HbF (14,8%), seguidos por TC (9,6%) e TT (6,0%). A análise *post-hoc* de Dunn revelou que as comparações CC vs. TT ($p = 0,017$)

e TC vs. TT ($p < 0,001$) foram estatisticamente significativas, sugerindo um forte efeito do alelo T na redução dos níveis de HbF (Figura 1D).

Modelos de regressão linear revelaram que todos os alelos variantes desses SNPs estavam associados a níveis aumentados de HbF. Entre as variantes de *BCL11A*, o rs1427407 exibiu o efeito mais forte ($\beta = 2,233$, $p < 0,001$) e explicou 7,7% da variância nos níveis de HbF. A variante *HBS1L-MYB* rs9399137 demonstrou o efeito mais substancial ($\beta = 3,930$, $p < 0,001$), respondendo por 14,9% da variância, indicando uma influência regulatória mais forte na expressão de HbF (Tabela 2).

Variantes de BCL11A e HBS1L-MYB e complicações clínicas da AF

Conduzimos uma análise de regressão logística para avaliar a associação entre os polimorfismos de *BCL11A* e *HBS1L-MYB* e o risco de complicações clínicas da AF. Os resultados, tanto não ajustados quanto ajustados para idade, sexo e CVOs por ano, são apresentados nas tabelas suplementares 1 - 5.

Considerando o AVC, os polimorfismos *BCL11A* rs4671393, rs1427407 e *HBS1L-MYB* rs9399137 mostraram associações significativas. Na comparação GG vs. GA/AA para o rs4671393, indivíduos portadores do genótipo ancestral GG tiveram um risco significativamente maior de AVC (OR não ajustado = 1,94, IC de 95%: 1,00–3,56, $p = 0,032$). Após o ajuste para idade, sexo e CVOs por ano, a associação permaneceu significativa (OR ajustado = 2,11, IC de 95%: 1,13–3,93, $p = 0,019$). Para o rs1427407, indivíduos portadores do genótipo ancestral GG tiveram um risco maior de AVC em comparação com outros genótipos (OR ajustado = 1,93, IC de 95%: 1,03–3,59, $p = 0,037$). Finalmente, o genótipo homocigoto ancestral TT do rs9399137 foi significativamente associado a um risco aumentado de AVC em comparação com os genótipos TC/CC (OR ajustado = 3,63, IC de 95%: 1,58–8,32, $p = 0,002$).

Considerando a osteonecrose, associações significativas também foram observadas para *BCL11A* rs4671393, rs1427407 e *HBS1L-MYB* rs9399137. Para o rs4671393, indivíduos portadores do genótipo ancestral GG apresentaram maior risco de osteonecrose em comparação àqueles com genótipos GA/AA (OR ajustado = 2,05, IC 95%: 1,08–3,89, $p = 0,027$). Para o *BCL11A* rs1427407, indivíduos com o genótipo ancestral GG apresentaram maior risco de osteonecrose em comparação aos genótipos GT/TT (OR ajustado = 2,16, IC 95%: 1,14–4,11, $p = 0,018$). Para o

rs9399137, indivíduos portadores do genótipo ancestral TT apresentaram risco significativamente maior de osteonecrose em comparação aos genótipos TC/CC (OR ajustado = 2,80, IC de 95%: 1,30–6,03, $p = 0,008$).

Considerando as úlceras de perna, associações significativas foram observadas para *BCL11A* rs4671393, rs1427407, rs11886868 e *HBS1L-MYB* rs9399137. Genótipos homocigotos ancestrais para rs4671393 (GG) (OR ajustado = 2,05, IC de 95%: 1,08–3,89, $p = 0,027$), rs1427407 (GG) (OR ajustado = 2,50, IC de 95%: 1,37–4,58, $p = 0,003$), rs11886868 (TT) (OR ajustado = 2,52, IC de 95%: 1,22–4,13, $p = 0,009$) e rs9399137 (TT) (OR ajustado = 2,42, IC de 95%: 1,22–4,79, $p = 0,011$) foram independentemente associados a um risco aumentado de úlceras nas pernas.

Associações significativas foram observadas para *BCL11A* rs4671393 e rs1427407 em relação ao priapismo. Genótipos homocigotos ancestrais para o rs4671393 (GG) (OR ajustado = 2,29, IC de 95%: 1,04–5,07, $p = 0,040$) e o rs1427407 (GG) (OR ajustado = 3,27, IC de 95%: 1,46–7,32, $p = 0,004$) foram independentemente associados a um risco aumentado de priapismo. Finalmente, para a STA, os genótipos homocigotos ancestrais para *BCL11A* rs4671393 (GG) (OR ajustado = 1,94, IC de 95%: 1,07–3,54, $p = 0,029$) e rs1427407 (GG) (OR ajustado = 2,07, IC de 95%: 1,13–3,80, $p = 0,018$) foram independentemente associados ao risco de SCA. Além disso, o genótipo variante CC do rs11886868 foi associado a um risco significativamente menor de STA em modelos não ajustados e ajustados (OR ajustado = 0,12, IC de 95%: 0,02–0,54, $p = 0,006$).

Incidência cumulativa de complicações clínicas de acordo com os genótipos BCL11A e HBS1L-MYB

Para investigar mais profundamente as associações entre os SNPs significativos e a incidência cumulativa de complicações, realizamos análises de sobrevivência de Kaplan-Meier para cada SNP encontrado como significativamente associado nos modelos de regressão logística. Essas análises foram conduzidas separadamente para cada complicação (AVC, osteonecrose, úlceras de perna, priapismo e STA), estratificando os pacientes pelos genótipos de *BCL11A* e *HBS1L-MYB*. As curvas de Kaplan-Meier para cada SNP mostraram diferenças na incidência

cumulativa de complicações, indicando uma relação potencial entre os genótipos e risco ao longo do tempo (Figuras Suplementares 1 e 2).

Após a análise de Kaplan-Meier, realizamos a regressão de riscos proporcionais de Cox para quantificar o efeito dos SNPs significativos no risco de desenvolver cada complicação, ajustando para covariáveis relevantes, incluindo idade, gênero e CVOs por ano. Os resultados da regressão de Cox confirmaram as associações observadas na análise de Kaplan-Meier, com vários SNPs mantendo associações significativas com a incidência cumulativa de complicações (Figura 2).

O *BCL11A* rs4671393 foi significativamente associado a incidência cumulativa de várias complicações. Especificamente, indivíduos portadores do genótipo ancestral GG tiveram um maior risco de AVC (razão de risco (HR) = 1,88, IC de 95%: 1,10–3,23, $p = 0,021$), osteonecrose (HR = 1,78, IC de 95%: 1,09–2,91, $p = 0,021$), priapismo (HR = 2,07, IC de 95%: 1,23–3,48, $p = 0,006$) e STA (HR = 1,95, IC de 95%: 1,13–3,39, $p = 0,014$). Indivíduos com o genótipo ancestral GG para o *BCL11A* rs1427407 exibiram um risco aumentado de osteonecrose (HR = 2,06, IC de 95%: 1,17–3,71, $p = 0,011$), priapismo (HR = 2,40, IC de 95%: 1,42–4,07, $p = 0,001$) e STA (HR = 1,96, IC de 95%: 1,18–3,27, $p = 0,009$). O genótipo CC do *BCL11A* rs11886868 foi associado a um risco cumulativo significativamente menor de STA (HR = 0,15, IC de 95%: 0,04–0,62, $p = 0,008$), sugerindo um potencial efeito protetor do genótipo CC variante.

Além disso, o *HBS1L-MYB* rs9399137 (TT vs. TC/CC) foi significativamente associado a um risco cumulativo aumentado de AVC (HR = 2,69, IC de 95%: 1,16–6,24, $p = 0,021$), osteonecrose (HR = 2,11, IC de 95%: 1,12–3,97, $p = 0,020$) e UMs (HR = 1,89, IC de 95%: 1,11–3,20, $p = 0,018$).

Escore de risco genético das variantes de BCL11A e HBS1L-MYB

Realizamos uma análise de regressão linear múltipla para avaliar a associação entre os níveis de HbF e o escore de risco genético (GRS), incluindo idade e gênero como covariáveis. O modelo foi estatisticamente significativo ($F(3, 371) = 17,14$, $p < 0,001$), explicando aproximadamente 11,5% da variância nos níveis de HbF (R^2 ajustado = 0,1146). O GRS foi significativamente associado aos níveis de HbF ($\beta = -$

0,99, $p < 0,001$) indicando que um GRS mais alto estava associado a níveis mais baixos de HbF (Figura 3A).

Além disso, para avaliar a associação entre o GRS e a presença de complicações clínicas, realizamos uma análise de regressão logística, ajustando para idade e sexo. Os resultados indicaram que um GRS mais alto foi significativamente associado a uma maior probabilidade de desenvolver complicações clínicas (OR = 1,30, IC 95%: 1,15–1,48, $p < 0,001$), sugerindo que cada alelo de risco adicional contribui para uma maior probabilidade de apresentar complicações relacionadas à doença (Figura 3B). Também avaliamos a associação entre o GRS e cada complicação clínica considerando idade, sexo e CVOs por ano como covariáveis (Tabela suplementar 6). O GRS foi significativamente associado a um risco aumentado de AVC (OR = 1,28, IC de 95%: 1,07-1,55, $p = 0,008$), osteonecrose (OR = 1,25, IC de 95%: 1,05-1,50, $p = 0,013$), UMs (OR = 1,35, IC de 95%: 1,14-1,62, $p < 0,001$), priapismo (OR = 1,30, IC de 95%: 1,02-1,68, $p = 0,040$) e STA (OR = 1,33, IC de 95%: 1,11-1,62, $p = 0,003$).

DISCUSSÃO

A modulação genética dos níveis de HbF na AF tem sido amplamente estudada em várias populações, sendo os polimorfismos de *BCL11A* e *HBS1L-MYB* os mais fortemente associados a este fenótipo (10,11,19–24). Neste estudo, investigamos a associação de variantes de *BCL11A* e *HBS1L-MYB* estabelecidas na literatura com níveis de HbF e o risco de complicações graves de AF em uma população do Nordeste do Brasil. Nossas principais descobertas indicam que as variantes rs4671393, rs1427407, rs11886868 e rs9399137 estão significativamente associadas com níveis de HbF, bem como com o risco e incidência cumulativa de complicações da AF. Além disso, um GRS refletindo o efeito combinado dessas variantes foi significativamente associado com níveis de HbF e maiores chances de complicações como AVC, osteonecrose, úlceras de perna, priapismo e STA.

O *BCL11A* (Linfoma de células B/leucemia 11A) é um fator de transcrição fortemente implicado com a inibição da expressão do gene *HBB* dentro do *locus* da β -globina. O *BCL11A* regula os níveis de HbF ligando-se diretamente à região promotora dos genes *HBB* e interagindo com outros reguladores eritroides, levando à

repressão da expressão da gama-globina (6,25). O papel crucial do *BCL11A* na expressão da HbF foi inicialmente identificado por meio de estudos de GWAS, que mostraram que polimorfismos em regiões intrônicas do gene *BCL11A* estavam fortemente associados aos níveis de HbF (12,13). Variantes localizadas dentro de um intensificador eritroide de 14 kb no íntron 2 de *BCL11A* (incluindo rs1427407, rs4671393 e rs11886868) têm fortes implicações funcionais, pois esta região abriga vários elementos reguladores envolvidos na reorganização da cromatina (26). Polimorfismos que sobrepõem esses elementos funcionais, reduzem a ligação de fatores de transcrição, afetando assim a expressão do *BCL11A* e a repressão dos genes da gama-globina, levando ao aumento da produção de HbF (15,27).

Além do *BCL11A*, variantes na região intergênica dos genes *HBS1L-MYB* também foram identificadas como modificadores significativos dos níveis de HbF por meio de estudos de GWAS (14). O gene *HBS1L* codifica uma proteína com atividade de ligação ao GTP e está envolvido em uma variedade de processos celulares (28). O gene *MYB* codifica o fator de transcrição c-Myb, que é um regulador chave da hematopoiese e influencia os níveis de HbF (29,30). Variantes na região intergênica *HBS1L-MYB* reduzem a ligação de fatores de transcrição eritroides, afetando as interações de longo alcance com *MYB* e os níveis de expressão de *MYB*, impactando, portanto, a expressão da gama globina (16).

Observamos que variantes em *BCL11A* (rs4671393, rs1427407, rs11886868) e *HBS1L-MYB* (rs9399137) foram significativamente associadas aos níveis de HbF. Indivíduos portadores de alelos protetores (genótipos variantes) exibiram níveis mais altos de HbF, o que pode contribuir para um curso clínico mais brando da doença. Especificamente, o rs1427407 foi responsável por 7,7% da variação nos níveis de HbF, e a variante rs9399137 *HBS1L-MYB* demonstrou o efeito mais substancial, respondendo por 14,9% da variação. A forte associação entre as variantes de *BCL11A* e *HBS1L-MYB* com os níveis de HbF se alinha com estudos anteriores, ao mesmo tempo em que destaca algumas diferenças. Notavelmente, em pesquisas anteriores, as variantes com a maior contribuição para a variância de HbF foram as mesmas variantes analisadas aqui, reforçando seus papéis significativos (9–11,31).

Em nossa coorte, o rs9399137 explicou 14,9% da variância, o que é maior do que o relatado em outras populações, incluindo a brasileira (9,11,23,32,33). Da mesma forma, embora nossos dados mostrem que o rs4671393 explica 6,5% da

variância da HbF, estudos anteriores relataram valores variando de 10% a 14,1% em coortes afro-americanas e brasileiras (10,11,31). A variabilidade observada entre os estudos sugere que a mistura genética desempenha um papel significativo na regulação da HbF em diferentes populações. Isso é particularmente relevante para a população brasileira, onde a mistura genética extensa provavelmente contribui para a heterogeneidade na variância dos níveis de HbF explicada por esses SNPs.

Neste estudo, pacientes que desenvolveram pelo menos uma complicação clínica apresentaram níveis de HbF mais baixos em comparação com pacientes com AF sem complicações, reforçando o papel protetor da alta HbF nos desfechos clínicos da AF. Considerando isso, também avaliamos a associação das variantes genéticas de *BCL11A* e *HBS1L-MYB* com o risco e a incidência cumulativa de complicações clínicas. Pacientes portadores de genótipos ancestrais para essas variantes exibiram um risco aumentado de AVC, osteonecrose, priapismo, STA e úlceras de perna. O risco aumentado observado em indivíduos com genótipos homocigotos ancestrais (por exemplo, rs4671393 GG, rs1427407 GG, rs9399137 TT) sugere que esses pacientes têm níveis mais baixos de HbF e, conseqüentemente, um risco maior de manifestações graves da doença. As análises de regressão de riscos proporcionais de Cox confirmaram ainda que genótipos de alto risco estão independentemente associados a uma maior incidência cumulativa de complicações ao longo do tempo. Notavelmente, o genótipo TT do rs9399137 contribuiu independentemente para maior incidência cumulativa de AVC, osteonecrose e úlceras de perna. Essa descoberta se alinha com as associações observadas dos níveis de HbF, pois os pacientes portadores do alelo variante do rs9399137 tinham níveis de HbF significativamente mais altos, o que provavelmente forneceu proteção contra a ocorrência dessas complicações clínicas.

Nossos resultados corroboram com descobertas anteriores de que variantes que aumentam a HbF afetam a ocorrência de complicações clínicas na AF, particularmente episódios de CVO e STA (10,11,19–21). Lettre et al. (2008), em um modelo incorporando cinco SNPs associados à HbF, demonstraram uma associação significativa com CVO. No entanto, esses SNPs não foram identificados como preditores do risco de STA ou mortalidade (10). Por outro lado, foi descrito que pacientes homocigotos para os alelos ancestrais de rs9399137 e rs4671393 apresentaram um risco aumentado de STA e um risco maior de infecção que requer

internação hospitalar, respectivamente, em comparação com aqueles portadores de pelo menos um alelo variante (11). Em outras observações, nenhuma associação foi observada entre as variantes genéticas *BCL11A* e *HBS1L-MYB*, e o número de CVOs e episódios de AVC (33).

Aqui, os SNPs rs4671393, rs1427407, rs11886868 foram significativamente associados ao risco de STA. Esse achado sugere um efeito cumulativo dessas variantes na suscetibilidade à STA, possivelmente por meio de seu impacto nos níveis de HbF. Considerando que níveis mais altos de HbF estão associados com redução da hemólise e da disfunção endotelial, ambos principais contribuintes para a patogênese da STA, as associações observadas reforçam o papel desses modificadores genéticos na modulação da gravidade dessa complicação (34,35). Portanto, a contribuição de múltiplos SNPs destaca a natureza poligênica da regulação da HbF. Em concordância, haplótipos formados por SNPs funcionais demonstraram um efeito aditivo nos níveis de HbF, em indivíduos portadores tanto do haplótipo formado por variantes do gene *BCL11A* quanto da região intergênica HMIP-2 exibindo maiores concentrações de HbF e menos complicações clínicas em pacientes pediátricos com AF (36).

Para avaliar o efeito combinado das quatro variantes analisadas neste estudo, geramos um GRS, avaliando o impacto cumulativo desses alelos de risco. Nossos resultados demonstram que o GRS está fortemente associado aos níveis de HbF e ao risco geral de complicações clínicas da AF. Um número crescente de alelos de risco se correlaciona com níveis mais baixos de HbF e um risco maior de complicações, enfatizando o efeito cumulativo de modificadores genéticos relacionados à HbF na gravidade da doença. Essas descobertas se alinham com estudos anteriores que exploraram o valor preditivo dos modelos de GRS na AF.

O número cumulativo de alelos que aumentam a HbF (rs7481244, rs1427407 e rs9399137) foi previamente associado a níveis mais elevados de hemoglobina, marcadores de hemólise reduzidos e frequências reduzidas de transfusão e crises de dor (32). Da mesma forma, Milton et al. (2014) desenvolveram um conjunto de 14 modelos de risco genético incorporando múltiplos SNPs em *BCL11A*, *HBS1L-MYB* e o cluster de genes do receptor olfativo, o que explicou mais de 20% da variabilidade nos níveis de HbF em diferentes coortes (37). Isso ressalta a vantagem dos modelos multi-SNP sobre a análise de SNP único para uma previsão de risco mais precisa.

Além disso, uma abordagem de GRS alternativa, integrando quatro variantes (rs1427407, rs7482144, rs66650371 e rs6545816) em uma única variável quantitativa, g(HbF), correlacionou-se com os níveis de HbF e foi associada a um menor número de hospitalizações e níveis mais altos de hemoglobina em coortes de descoberta e replicação (38). Em populações brasileiras com AF, uma pontuação de alelos benéficos (incluindo SNPs em *BCL11A* e *HBS1L-MYB*) correlacionou-se com os níveis de HbF e menor número de complicações clínicas (9). Nossas descobertas reforçam essas observações e fornecem novos insights ao demonstrar uma associação significativa entre o GRS e múltiplas complicações clínicas da AF. Isso sugere que o GRS pode servir como uma ferramenta valiosa para estratificação de risco, potencialmente orientando intervenções precoces para pacientes com maior risco de manifestações graves da doença.

Apesar da influência dessas variantes genéticas nos níveis de HbF, uma proporção significativa da variabilidade de HbF permanece inexplicada pelos modelos atuais. Essa hereditariedade ausente pode ser atribuída a outras interações gene-gene, modificações epigenéticas ou à presença de múltiplas variantes raras com tamanhos de efeito pequenos (37). No entanto, apesar dessas limitações, abordagens que avaliam o efeito combinado de múltiplas variantes, juntamente com outros fatores modificadores, fornecem uma avaliação mais abrangente e informativa das contribuições genéticas para a gravidade da doença em comparação com análises de SNP único. Ao integrar múltiplos loci de risco, esses modelos aumentam a precisão preditiva e oferecem maior potencial para estratificação de risco na AF.

Em resumo, nossos resultados fornecem *insights* valiosos sobre o papel de polimorfismos em *BCL11A* e *HBS1L-MYB*, na influência da gravidade da AF, reforçando sua significância clínica além da regulação da HbF. Ao demonstrar fortes associações entre essas variantes e as principais complicações da AF, incluindo AVC, osteonecrose, úlceras de perna, priapismo e STA, em uma coorte bem caracterizada, nosso estudo destaca sua contribuição sinérgica para as principais causas de morbidade e mortalidade da doença, possivelmente por meio da modulação da HbF. Essas descobertas apoiam a utilidade dos marcadores genéticos na estratificação do risco de doenças. Estudos adicionais integrando fatores genéticos, ambientais e terapêuticos são essenciais para aprofundar nossa compreensão da heterogeneidade da AF e da regulação genética da HbF.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

GSA realizou experimentos, realizou análises estatísticas, interpretou dados e redigiu o manuscrito. APS, MVD, IFD, DAPM, ABA atualizaram os dados clínicos, interpretaram os dados e revisaram o manuscrito. ASA, recrutou pacientes, garantiu acesso às amostras dos pacientes e atualizou os dados clínicos. SOS, FFC, ARL-A. e MACB interpretaram os dados e revisaram o manuscrito. MACB concebeu e projetou o estudo e deu a aprovação final da versão a ser submetida.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a todos os pacientes com AF pela cooperação neste estudo.

INFORMAÇÕES DE FINANCIAMENTO

Este trabalho foi apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq nº 405918/2022-4), (CNPq nº 408710/2021-7) e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE #APQ-1212-2.02/22).

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores não têm interesses financeiros conflitantes a declarar.

REFERÊNCIAS

1. Piccin A, Murphy C, Eakins E, Rondinelli M, Daves M, Vecchiato C, et al. Insight into the complex pathophysiology of sickle cell anemia and possible treatment. *Eur J Haematol.* 2019;102(4):319–30.
2. Akinsheye I, Alsultan A, Solovieff N, Ngo D, Baldwin CT, Sebastiani P, et al. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. *Blood.* 2011;118(1):19–27.
3. Bhatnagar P, Keefer J, Casella J, Barron-Casella E, Bean C, Hooper C, et al. Association Between Baseline Fetal Hemoglobin Levels and Incidence of Severe Vaso-Occlusive Pain Episodes in Children With Sickle Cell Anemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2013;60(February):125–7.

4. Platt OS. Hydroxyurea for the Treatment of Sickle Cell Anemia. *N Engl J Med*. 2008;358:1362–9.
5. Sankaran VG, Orkin SH. The Switch from Fetal to Adult Hemoglobin. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;
6. Liu N, Hargreaves V V., Zhu Q, Kurland J V., Hong J, Kim W, et al. Direct Promoter Repression by *BCL11A* Controls the Fetal to Adult Hemoglobin Switch. *Cell* [Internet]. 2018;173(2):430-442.e17. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.016>
7. Menzel S, Thein SL. Genetic Modifiers of Fetal Haemoglobin in Sickle Cell Disease. *Mol Diagn Ther* [Internet]. 2019;23(2):235–44. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40291-018-0370-8>
8. Mohammad SNNA, Ibrahım S, Wan Ab Rahman WS, Hassan MN, Edinur HA, Azlan M, et al. Single Nucleotide Polymorphisms in *XMN1-HBG2*, *HBS1L-MYB*, and *BCL11A* and Their Relation to High Fetal Hemoglobin Levels That Alleviate Anemia. *Diagnostics*. 2022;12(6):1–13.
9. Leonardo FC, Brugnerotto AF, Domingos IF, Fertrin KY, de Albuquerque DM, Bezerra MAC, et al. Reduced rate of sickle-related complications in Brazilian patients carrying Hb F-promoting alleles at the *BCL11A* and *HMIP-2* loci. *Br J Haematol*. 2016;173(3):456–60.
10. Lettre G, Sankaran VG, Bezerra MAC, Araujo AS, Uda M, Sanna S, et al. DNA polymorphisms at the *BCL11A*, *HBS1L-MYB*, and γ -globin loci associate with fetal hemoglobin levels and pain crises in sickle cell disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008 Aug;105(33):11869–74.
11. Sales RR, Belisário AR, Faria G, Mendes F, Luizon MR, Viana MB. Functional polymorphisms of *BCL11A* and *HBS1L-MYB* genes affect both fetal hemoglobin level and clinical outcomes in a cohort of children with sickle cell anemia. *Ann Hematol*. 2020;99(7):1453–63.
12. Menzel S, Garner C, Gut I, Matsuda F, Yamaguchi M, Heath S, et al. A QTL influencing F cell production maps to a gene encoding a zinc-finger protein on chromosome 2p15. *Nat Genet*. 2007;39(10):1197–9.
13. Uda M, Galanello R, Sanna S, Lettre G, Sankaran VG, Chen W, et al. Genome-wide association study shows *BCL11A* associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of α -thalassemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008 Feb;105(5):1620–5.
14. Thein SL, Menzel S, Peng X, Best S, Jiang J, Close J, et al. Intergenic variants of *HBS1L-MYB* are responsible for a major quantitative trait locus on chromosome 6q23 influencing fetal hemoglobin levels in adults. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(27):11346–51.
15. Sales RR, Nogueira BL, Tosatti JAG, Gomes KB, Luizon MR. Do Genetic Polymorphisms Affect Fetal Hemoglobin (Hb F) Levels in Patients With Sickle Cell

Anemia Treated With Hydroxyurea? A Systematic Review and Pathway Analysis. *Front Pharmacol.* 2022;12(January):1–13.

16. Stadhouders R, Aktuna S, Thongjuea S, Aghajani-refah A, Pourfarzad F, Van IJcken W, et al. *HBS1L-MYB* intergenic variants modulate fetal hemoglobin via long-range MYB enhancers. *Journal of Clinical Investigation.* 2014;124(4):1699–710.

17. Davis L, Dibner M, Battey J. *Basic Methods in Molecular Biology.* Vol. 1st ed., Elsevier. 1986. 399 p.

18. Powars DR. Beta s-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia. Clinical and hematologic features. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1991 Jun;5(3):475–93.

19. Upadhye D, Jain D, Trivedi Y, Nadkarni A, Ghosh K, Colah R. Influence of single nucleotide polymorphisms in the *BCL11A* and *HBS1L-MYB* gene on the Hb F levels and clinical severity of sickle cell anaemia patients. *Ann Hematol [Internet].* 2016;95(7):1201–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00277-016-2675-1>

20. Chaouch L, Moumni I, Ouragini H, Darragi I, Kalai M, Chaouachi D, et al. rs11886868 and rs4671393 of *BCL11A* associated with Hb F level variation and modulate clinical events among sickle cell anemia patients. *Hematology (United Kingdom).* 2016;21(7):425–9.

21. El-Ghamrawy M, Yassa ME, Tousson AMS, El-hady MA, Mikhaeil E, Mohamed NB, et al. Association between *BCL11A*, *HSB1L-MYB*, and XmnI γ G-158 (C/T) gene polymorphism and hemoglobin F level in Egyptian sickle cell disease patients. *Ann Hematol.* 2020;99(10):2279–88.

22. Brahim AT, Taleb M, Soumaré H, Ghaber SM, Mohamed A, Boukhary AOMS. Genotyping the *BCL11A* Single Nucleotide Polymorphism and Associated Levels of Fetal Hemoglobin in Mauritanian Sickle Cell Patients. *Frontiers in Bioscience - Scholar.* 2024;16(2).

23. Akbulut-Jeradi N, Fernandez MJ, Al Khaldi R, Sukumaran J, Adekile A. Unique Polymorphisms at *BCL11A*, *HBS1L-MYB* and *HBB* Loci Associated with Hb F in Kuwaiti Patients with Sickle Cell Disease. *J Pers Med.* 2021;11(6):1–11.

24. Adeyemo TA, Ojewunmi OO, Oyetunji IA, Rooks H, Rees DC, Akinsulie AO, et al. A survey of genetic fetal-haemoglobin modifiers in Nigerian patients with sickle cell anaemia. *PLoS One.* 2018;13(6):1–10.

25. Xu J, Bauer DE, Kerényi MA, Vo TD, Hou S, Hsu YJ, et al. Corepressor-dependent silencing of fetal hemoglobin expression by *BCL11A*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(16):6518–23.

26. Bauer DE, Kamran SC, Lessard S, Xu J, Fujiwara Y, Lin C, et al. An erythroid enhancer of *BCL11A* subject to genetic variation determines fetal hemoglobin level. *Science (1979).* 2013;342(6155):253–7.

27. Sankaran VG, Menne TF, Xu J, Akie TE, Lettre G, Van Handel B, et al. Human fetal hemoglobin expression is regulated by the developmental stage-specific

repressor *BCL11A*. Science [Internet]. 2008;322(5909):1839–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19056937>

28. Mohammad SNNA, Ibrahım S, Wan Ab Rahman WS, Hassan MN, Edinur HA, Azlan M, et al. Single Nucleotide Polymorphisms in *XMN1-HBG2*, *HBS1L-MYB*, and *BCL11A* and Their Relation to High Fetal Hemoglobin Levels That Alleviate Anemia. *Diagnostics*. 2022;12(6):1–13.

29. Bianchi E, Zini R, Salati S, Tenedini E, Norfo R, Tagliafıco E, et al. c-myb supports erythropoiesis through the transactivation of *KLF1* and *LMO2* expression. *Blood*. 2010;116(22):99–111.

30. Wang X, Angelis N, Thein SL. MYB – A regulatory factor in hematopoiesis. *Gene* [Internet]. 2018;665:6–17. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.04.065>

31. Cardoso GL, Diniz IG, Martins da Silva ANL, Cunha DA, da Silva Junior JS, Carvalho UchÔa CT, et al. DNA polymorphisms at *BCL11A*, *HBS1L-MYB* and *Xmn1-HBG2* site loci associated with fetal hemoglobin levels in sickle cell anemia patients from Northern Brazil. *Blood Cells Mol Dis* [Internet]. 2014;53(4):176–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcnd.2014.07.006>

32. Al-Allawi N, Qadir SMA, Puehringer H, Chui DHK, Farrell JJ, Oberkanins C. The association of *HBG2*, *BCL11A*, and *HMIP* polymorphisms with fetal hemoglobin and clinical phenotype in Iraqi Kurds with sickle cell disease. *Int J Lab Hematol*. 2019;41(1):87–93.

33. Wonkam A, Ngo Bitoungui VJ, Vorster AA, Ramesar R, Cooper RS, Tayo B, et al. Association of variants at *BCL11A* and *HBS1L-MYB* with hemoglobin F and hospitalization rates among sickle cell patients in Cameroon. *PLoS One*. 2014;9(3).

34. Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *Journal of Clinical Investigation*. 2017;127(3):750–60.

35. Jain S, Bakshi N, Krishnamurti L. Acute Chest Syndrome in Children with Sickle Cell Disease. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol*. 2017 Dec 1;30(4):191–201.

36. Sales RR, Nogueira BL, Belisário AR, Faria G, Mendes F, Viana MB, et al. Fetal hemoglobin-boosting haplotypes of *BCL11A* gene and *HBS1L-MYB* intergenic region in the prediction of clinical and hematological outcomes in a cohort of children with sickle cell anemia. *J Hum Genet*. 2022;67(12):701–9.

37. Milton JN, Gordeuk VR, Taylor JG, Gladwin MT, Steinberg MH, Sebastiani P. Prediction of fetal hemoglobin in sickle cell anemia using an ensemble of genetic risk prediction models. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014;7(2):110–5.

38. Gardner K, Fulford T, Silver N, Rooks H, Angelis N, Allman M, et al. G(Hb F): A genetic model of fetal hemoglobin in sickle cell disease. *Blood Adv*. 2018;2(3):235–9.

Tabela 1: Características basais dos pacientes com AF de acordo com o estado da doença.

Características dos pacientes	Todos os pacientes (n = 409)		Pacientes sintomáticos (n = 291)		Pacientes Controle (n = 148)		p-value**
	N.	%	N.	%	N.	%	
Sexo							
Feminino	215	52,6	114	43,7	101	68,2	< 0,001*
Masculino	194	47,4	147	56,3	47	31,8	
Idade (anos). mediana	34 (15)		34 (13)		34 (16)		0,657
CVOs/por ano							
<3	193	47,5	107	41,5	86	58,1	0,005*
3 - 6	153	37,7	107	41,5	46	31,1	
>6	60	14,8	44	17,1	16	10,8	
HbF (%)	6,7 (6,8)		5,8 (5,6)		8,9 (9,3)		< 0,001*
RBC (x 10 ¹² /μL)	2,53 (0,58)		2,51 (0,58)		2,59 (0,58)		0,047*
Hb (g/dL)	7,8 (1,4)		7,7 (1,4)		8,0 (1,4)		0,045*
Hematócrito (%)	23,4 (4,6)		23,1 (4,4)		24,1 (4,1)		0,103
Reticulócito (%)	10 (7,0)		10,2 (7,2)		9,3 (7,2)		0,359
Leucócitos (x 10 ⁹ /L)	12,1 (5,1)		12,5 (5,4)		11,2 (5,0)		0,167
Plaquetas (x 10 ⁹ /L)	425 (170)		422 (175)		422 (172)		0,715
TB (mg/dL)	2,8 (2,2)		3,0 (2,3)		2,6 (2,0)		0,087
IB (mg/dL)	2,1 (2,1)		2,2 (2,2)		2,0 (1,9)		0,067
LDH (U/L)	807 (601)		876 (737)		713 (455)		0,037*
Haplótipo βS							
CAR/CAR	222	57,4	142	57,0	80	58,0	0,915
Não-CAR/CAR	165	42,6	107	43,0	58	42,0	
<i>BCL11A</i> rs4671393							
GG	207	50,6	145	55,6	62	41,9	
GA	182	44,5	105	40,2	77	55,0	0,029*
AA	20	4,9	11	4,2	09	6,1	
<i>BCL11A</i> rs1427407							
GG	215	52,6	152	58,2	63	42,6	
GT	175	42,8	97	37,2	78	52,7	0,008*
TT	19	4,6	12	4,6	07	4,7	
<i>BCL11A</i> rs11886868							
TT	147	35,9	103	39,5	44	29,7	
TC	206	50,4	128	49,0	78	52,7	0,071
CC	56	13,7	30	11,5	26	17,6	
<i>HBS1L-MYB</i> rs9399137							
TT	304	74,3	209	80,1	95	64,2	
TC	93	22,7	47	18,0	46	31,1	0,002*
CC	12	2,9	05	1,9	07	4,7	

CVO, crise vaso-oclusiva; RBC, glóbulos vermelhos; Hb, hemoglobina; Hb F, hemoglobina fetal; WBC, glóbulos brancos; IB, bilirrubina indireta; LDH, lactato desidrogenase; CAR, República Centro-Africana. Os parâmetros laboratoriais são descritos como mediana (intervalo interquartil (IIQ)).

* Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

**Testes exatos de Fisher ou qui-quadrado para variáveis categóricas. Testes de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis para variáveis contínuas

Tabela 2: Análise de regressão linear dos polimorfismos de *BCL11A* e *HBS1L-MYB* com níveis de HbF de acordo com modelo alélico aditivo.

SNP	Alelo mínimo (alelo <i>High-HbF</i>)	MAF	Tamanho do efeito (β)	valor p	R ² (Variância Explicada (%))
<i>BCL11A</i>					
rs4671393	UM	0,27	1.937	<0,001	6,5%
rs1427407	E	0,26	2.233	<0,001	7,7%
rs11886868	C	0,39	1.444	<0,001	5,4%
<i>HBS1L-MYB</i>					
rs9399137	C	0,14	3.930	<0,001	14,9%

O tamanho do efeito (β) representa o aumento estimado de HbF por alelo mínimo. Os valores de R² indicam a porcentagem de variância em HbF explicada por cada SNP. MAF – frequência do alelo mínimo; SNP – polimorfismo de nucleotídeo único.

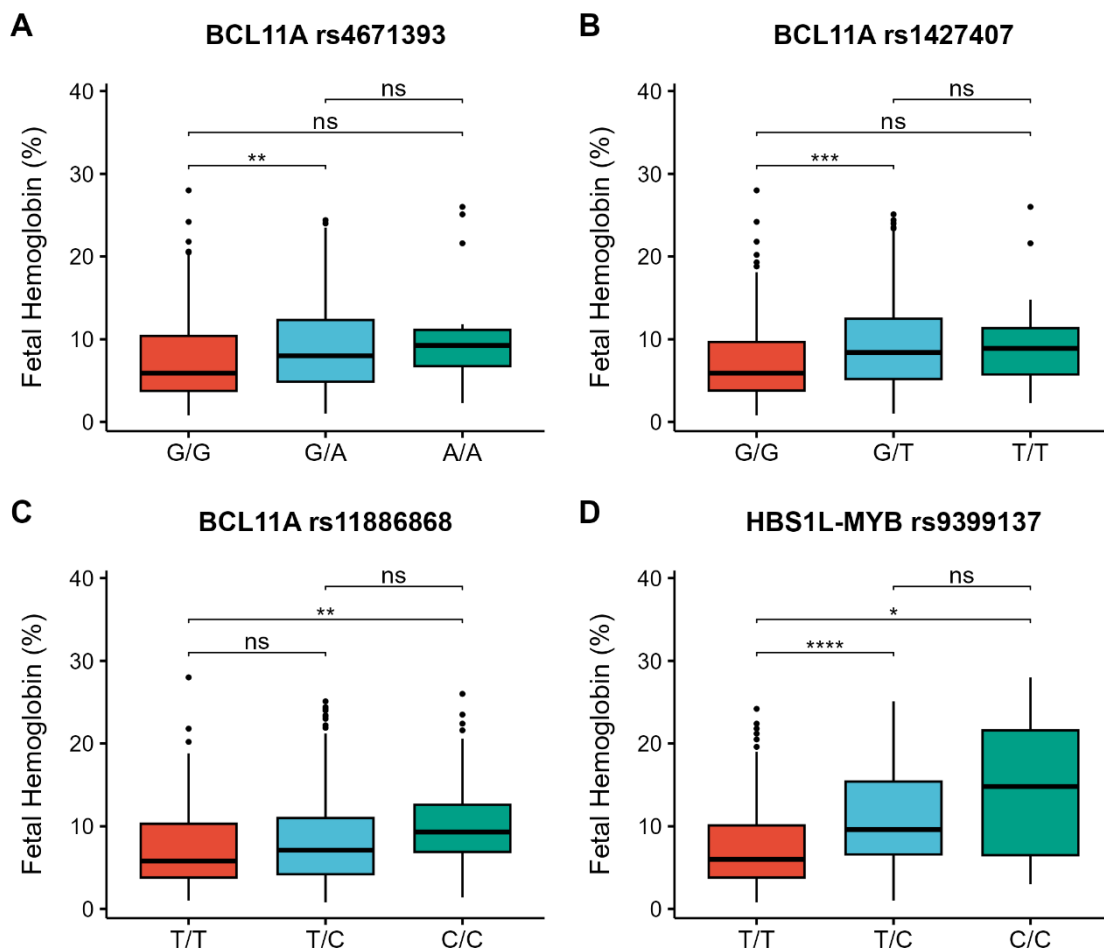


Figura 1: Associação entre os níveis de hemoglobina fetal (Hb F) e variantes genéticas em *BCL11A* e *HBS1L-MYB*. Os diagramas de caixa representam os níveis de Hb F (%) em pacientes com anemia falciforme (AF) estratificados por genótipo para os quatro polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs): (A) *BCL11A* rs4671393, (B) *BCL11A* rs1427407, (C) *BCL11A* rs11886868 e (D) *HBS1L-MYB* rs9399137. A significância estatística foi avaliada usando o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn. Os níveis de significância são indicados da seguinte forma: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$; ns = não significativo.

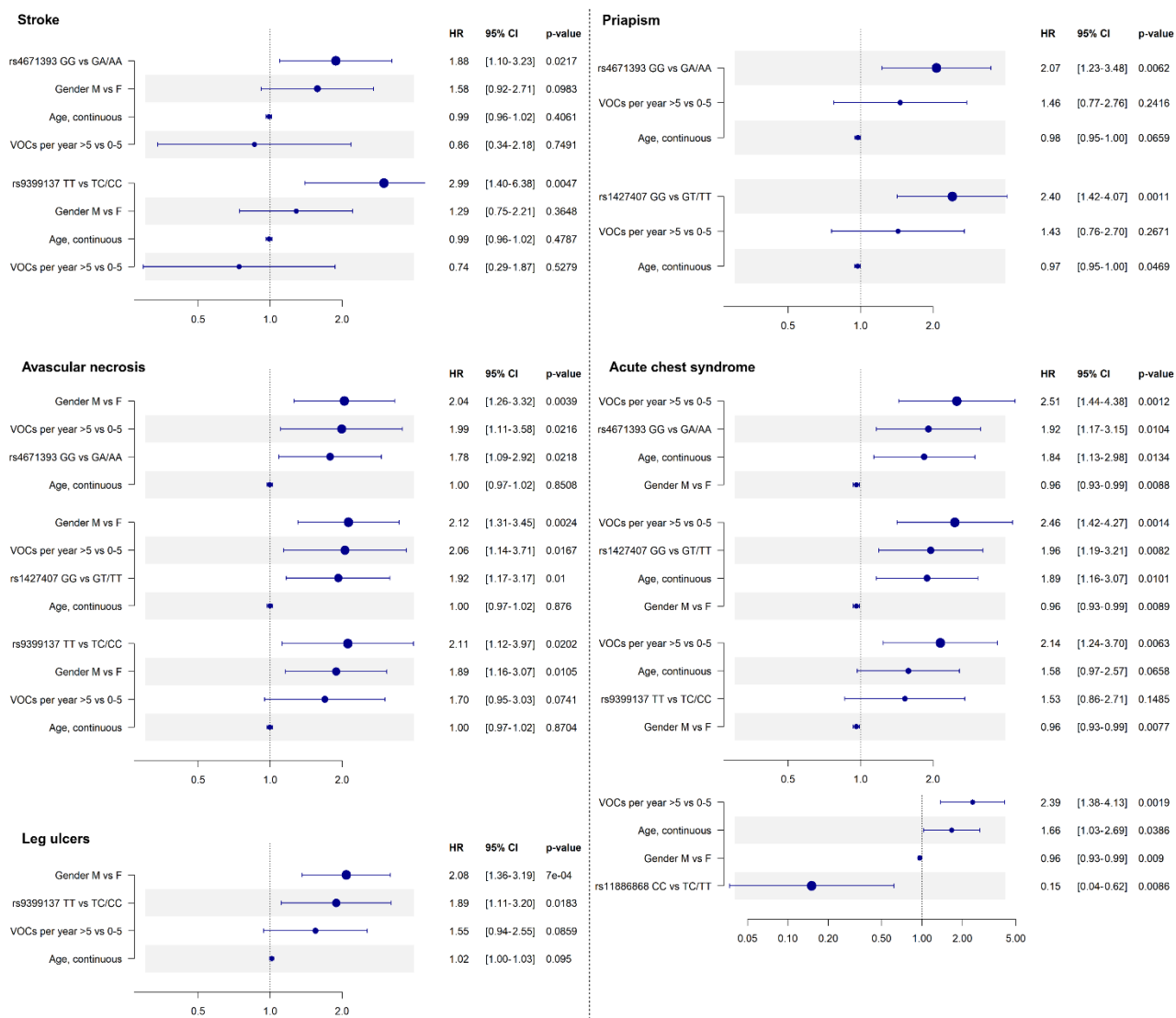


Figura 2: *Forest plots* da análise de regressão proporcional de Cox para preditores genéticos e clínicos de complicações da anemia falciforme (AF). As análises foram realizadas para acidente vascular cerebral, priapismo, necrose avascular, síndrome torácica aguda e úlceras de perna. As variantes genéticas avaliadas incluem *BCL11A* rs4671393, *BCL11A* rs1427407, *BCL11A* rs11886868 e *HBS1L-MYB* rs9399137. Covariáveis clínicas como gênero (masculino vs. feminino), idade (variável contínua) e frequência de crises vaso-oclusivas (CVOs por ano: >5 vs. 0-5) foram incluídas nos modelos de regressão. Razões de risco (HRs) maiores que 1 indicam risco aumentado, enquanto HRs abaixo de 1 indicam efeito protetor para a primeira categoria listada.

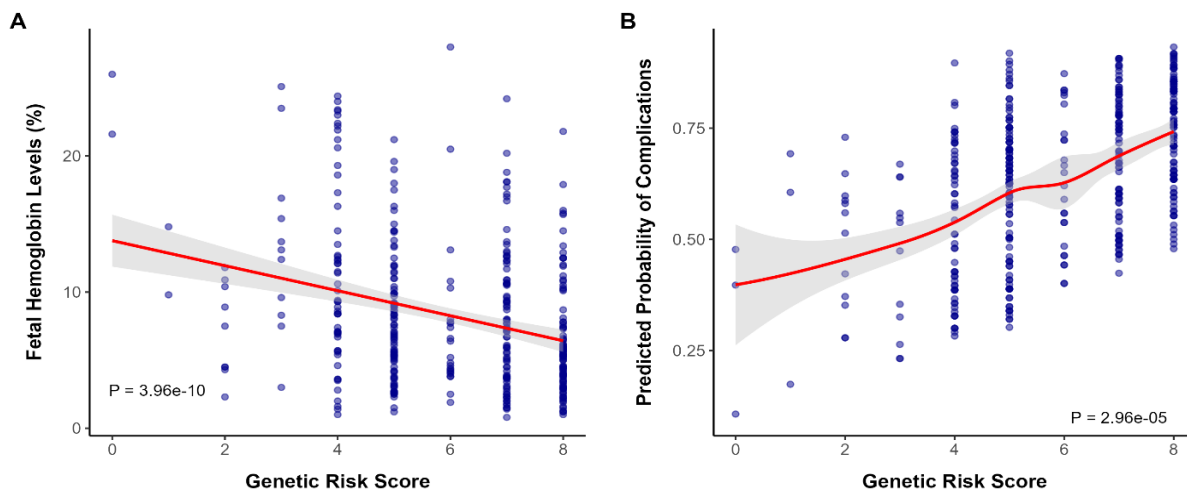


Figura 3: Associação do Escore de Risco Genético (GRS) com os níveis de hemoglobina fetal e complicações clínicas em pacientes com anemia falciforme (AF). (A) Diagrama de dispersão mostrando a associação entre o GRS e os níveis de hemoglobina fetal (HbF) (%) em pacientes com AF. Cada ponto representa um indivíduo, e a linha vermelha indica o ajuste de regressão linear com o intervalo de confiança de 95% (área sombreada). (B) Diagrama de dispersão mostrando a associação entre o GRS e a probabilidade de desenvolvimento de complicações clínicas em pacientes com AF. A linha vermelha representa o ajuste de regressão logística com um intervalo de confiança de 95% (área sombreada).

Tabela suplementar 1: Regressão logística binária univariada e multivariada para desenvolvimento de acidente vascular cerebral com base nas variantes genéticas de *BCL11A* e *HBS1L-MYB*.

Gene SNP	Comparação	Genótipos	AVC + N (%)	AVC - N (%)	OR (IC 95%) Não ajustado	<i>p</i> -value Não ajustado	OR (IC 95%) Ajustado	<i>p</i> -value Ajustado
<i>BCL11A</i> rs4671393	GG vs GA/AA	GG	35 (58,3)	62 (41,9)	1,00			
		GA/AA	25 (41,7)	86 (58,1)	1,94 (1,0-3,56)	0,032*	2,11 (1,13-3,93)	0,019*
	AA vs GA/GG	GA/GG	57 (95,0)	139 (93,9)	1,00			
		AA	03 (5,0)	09 (6,1)	0,81 (0,21-3,11)	0,762	0,78 (0,20-3,04)	0,724
	GA vs GG/AA	GG/AA	38 (63,3)	71 (48,0)	1,00			
		GA	22 (36,7)	77 (52,0)	0,53 (0,28-0,98)	0,046*	0,49 (0,26-0,93)	0,029*
<i>BCL11A</i> rs1427407	GG vs GT/TT	GG	34 (56,7)	63 (42,6)	1,00			
		GT/TT	26 (43,3)	85 (57,4)	1,76 (0,96-3,23)	0,066	1,93 (1,03-3,59)	0,037*
	TT vs GGGT	GGGT	57 (95,0)	141 (95,3)	1,00			
		TT	03 (5,0)	07 (4,7)	1,06 (0,26-4,24)	0,934	0,90 (0,21-3,74)	0,886
	GT vs GG/TT	GG/TT	37 (61,7)	70 (47,3)	1,00			
		GT	23 (38,3)	78 (52,7)	0,55 (0,30-1,02)	0,062	0,52 (0,28-0,98)	0,044*
<i>BCL11A</i> rs11886868	TT vs TC/CC	TT	22 (36,7)	44 (29,7)	1,00			
		TC/CC	38 (63,3)	104 (70,3)	1,36 (0,72-2,57)	0,331	1,44 (0,75-2,75)	0,263
	CC vs TC/TT	TT/TC	53 (88,3)	122 (82,4)	1,00			
		CC	07 (11,7)	28 (17,6)	0,62 (0,25-1,51)	0,295	0,56 (0,22-1,40)	0,220
	TC vs TT/CC	TT/CC	29 (48,3)	70 (47,3)	1,00			
		TC	31 (51,7)	78 (52,7)	0,95 (0,52-1,74)	0,892	0,96 (0,52-1,77)	0,899
<i>HBS1L-MYB</i> rs9399137	TT vs TC/CC	TT	52 (86,7)	95 (64,2)	1,00			
		TC/CC	08 (13,3)	53 (35,8)	3,62 (1,60-8,20)	0,002*	3,63 (1,58-8,32)	0,002*
	CC vs TC/TT	TT/TC	60 (100)	141 (95,3)	1,00			
		CC	0 (0)	07 (4,7)	2,25 (1,04-4,57)	0,03*	--	--
	TC vs TT/CC	TT/CC	52 (86,7)	102 (68,9)	1,00			
		TC	08 (13,3)	46 (31,1)	0,34 (0,15-0,77)	0,010*	0,35 (0,15-0,81)	0,014*

Os ajustes no modelo multivariado incluem idade, sexo e crises vaso-oclusivas (CVOs) por ano como covariáveis. Os resultados são relatados como odds ratios (OR) com intervalos de confiança (IC) de 95% e valores de *p* correspondentes, onde OR >1 indica risco aumentado, enquanto OR <1 sugere um efeito protetor para a primeira categoria listada. Associações estatisticamente significativas (*p* < 0,05) são destacadas.

Tabela suplementar 2: Regressão logística binária univariada e multivariada para desenvolvimento de necrose asséptica de cabeça de fêmur/osteonecrose (NACF) com base nas variantes genéticas de *BCL11A* e *HBS1L-MYB*.

Gene SNP	Comparação	Genótipos	NACF + N (%)	NACF - N (%)	OR (IC 95%) Não ajustado	<i>p</i> -value Não ajustado	OR (IC 95%) Ajustado	<i>p</i> -value Ajustado
<i>BCL11A</i> rs4671393	GG vs GA/AA	GG	36 (54,5)	62 (41,9)	1,00	0,087	2,05 (1,08-3,89)	0,027*
		GA/AA	30 (45,5)	86 (58,1)	1,66 (0,92-2,98)			
	AA vs GA/GG	GA/GG	61 (92,4)	139 (93,9)	1,00	0,684	1,03 (0,29-3,54)	0,963
		AA	05 (7,6)	09 (6,1)	1,26 (0,40-3,93)			
	GA vs GG/AA	GG/AA	41 (62,1)	71 (48,0)	1,00	0,057	0,48 (0,25-0,91)	0,026*
GA	25 (37,9)	77 (52,0)	0,56 (0,31-1,01)					
<i>BCL11A</i> rs1427407	GG vs GT/TT	GG	37 (56,1)	63 (42,6)	1,00	0,069	2,16 (1,14-4,11)	0,018*
		GT/TT	29 (43,9)	85 (57,4)	1,72 (0,95-3,09)			
	TT vs GGGT	GGGT	61 (92,4)	141 (95,3)	1,00	0,407	0,98 (0,26-3,64)	0,978
		TT	05 (7,6)	07 (4,7)	1,65 (0,50-5,40)			
	GT vs GG/TT	GG/TT	42 (63,6)	70 (47,3)	1,00	0,028*	0,46 (0,24-0,88)	0,019*
GT	24 (36,4)	78 (52,7)	0,51 (0,28-0,93)					
<i>BCL11A</i> rs11886868	TT vs TC/CC	TT	23 (34,8)	44 (29,7)	1,00	0,456	1,40 (0,72-2,74)	0,318
		TC/CC	43 (65,2)	104 (70,3)	1,26 (0,68-2,34)			
	CC vs TC/TT	TT/TC	54 (81,8)	122 (82,4)	1,00	0,914	0,85 (0,38-1,91)	0,704
		CC	12 (18,2)	26 (17,6)	1,04 (0,49-2,21)			
	TC vs TT/CC	TT/CC	35 (53,0)	70 (47,3)	1,00	0,439	0,82 (0,43-1,53)	0,532
TC		31 (47,0)	78 (52,7)	0,79 (0,44-1,42)				
<i>HBS1L-MYB</i> rs9399137	TT vs TC/CC	TT	54 (81,8)	95 (64,2)	1,00	0,011*	2,80 (1,30-6,03)	0,008*
		TC/CC	12 (18,2)	53 (35,8)	2,51 (1,23-5,10)			
	CC vs TC/TT	TT/TC	64 (97,0)	141 (95,3)	1,00	0,570	0,96 (0,06-2,30)	0,302
		CC	02 (3,0)	07 (4,7)	0,62 (0,12-3,11)			
	TC vs TT/CC	TT/CC	56 (84,8)	102 (68,9)	1,00	0,017*	0,39 (0,17-0,87)	0,022*
TC		10 (15,2)	46 (31,1)	0,39 (0,18-0,84)				

Os ajustes no modelo multivariado incluem idade, sexo e crises vaso-oclusivas (CVOs) por ano como covariáveis. Os resultados são relatados como odds ratios (OR) com intervalos de confiança (IC) de 95% e valores de *p* correspondentes, onde OR >1 indica risco aumentado, enquanto OR <1 sugere um efeito protetor para a primeira categoria listada. Associações estatisticamente significativas (*p* < 0,05) são destacadas.

Tabela suplementar 3: Regressão logística binária univariada e multivariada para desenvolvimento de úlcera maleolar (UM) com base nas variantes genéticas *BCL11A* e *HBS1L-MYB*.

Gene SNP	Comparação	Genótipos	UM + N (%)	UM - N (%)	OR (IC 95%) Não ajustado	<i>p</i> -value Não ajustado	OR (IC 95%) Ajustado	<i>p</i> -value Ajustado
<i>BCL11A</i> rs4671393	GG vs GA/AA	GG	48 (50,0)	62 (41,9)	1,00	0,087	2,05 (1,08-3,89)	0,027*
		GA/AA	48 (50,0)	86 (58,1)	1,66 (0,92-2,98)			
	AA vs GA/GG	GA/GG	90 (93,8)	139 (93,9)	1,00	0,957	0,90 (0,26-3,07)	0,869
		AA	06 (6,3)	09 (6,1)	1,03 (0,35-2,99)			
GA vs GG/AA	GG/AA	54 (56,3)	71 (48,0)	1,00	0,207	0,50 (0,28-0,91)	0,024*	
	GA	42 (43,8)	77 (52,0)	0,71 (0,42-1,20)				
<i>BCL11A</i> rs1427407	GG vs GT/TT	GG	52 (54,2)	63 (42,6)	1,00	0,077	2,50 (1,37-4,58)	0,003*
		GT/TT	44 (45,8)	85 (57,4)	1,59 (0,95-2,67)			
	TT vs GGGT	GGGT	91 (94,8)	141 (95,3)	1,00	0,866	0,56 (0,14-2,20)	0,409
		TT	05 (5,2)	07 (4,7)	1,10 (0,34-3,59)			
GT vs GG/TT	GG/TT	57 (59,4)	70 (47,3)	1,00	0,066	0,45 (0,24-0,81)	0,008*	
	GT	39 (40,6)	78 (52,7)	0,61 (0,36-1,03)				
<i>BCL11A</i> rs11886868	TT vs TC/CC	TT	41 (42,7)	44 (29,7)	1,00	0,038*	2,52 (1,22-4,13)	0,009*
		TC/CC	55 (57,3)	104 (70,3)	1,76 (1,03-3,01)			
	CC vs TC/TT	TT/TC	82 (85,4)	122 (82,4)	1,00	0,539	0,53 (0,24-1,20)	0,131
		CC	14 (14,6)	26 (17,6)	0,80 (0,39-1,62)			
TC vs TT/CC	TT/CC	55 (57,3)	70 (47,3)	1,00	0,128	0,66 (0,37-1,18)	0,166	
	TC	41 (42,7)	78 (52,7)	0,66 (0,39-1,12)				
<i>HBS1L-MYB</i> rs9399137	TT vs TC/CC	TT	77 (80,2)	95 (64,2)	1,00	0,008*	2,42 (1,22-4,79)	0,011*
		TC/CC	19 (19,8)	53 (35,8)	2,26 (1,23-4,13)			
	CC vs TC/TT	TT/TC	94 (97,9)	141 (95,3)	1,00	0,297	0,26 (0,04-1,59)	0,145
		CC	02 (2,1)	07 (4,7)	0,42 (0,08-2,10)			
TC vs TT/CC	TT/CC	79 (82,3)	102 (68,9)	1,00	0,021*	0,48 (0,23-0,97)	0,042*	
	TC	17 (17,7)	46 (31,1)	0,47 (0,25-0,89)				

Os ajustes no modelo multivariado incluem idade, sexo e crises vaso-oclusivas (CVOs) por ano como covariáveis. Os resultados são relatados como odds ratios (OR) com intervalos de confiança (IC) de 95% e valores de *p* correspondentes, onde OR >1 indica risco aumentado, enquanto OR <1 sugere um efeito protetor para a primeira categoria listada. Associações estatisticamente significativas (*p* < 0,05) são destacadas.

Tabela suplementar 4: Regressão logística binária univariada e multivariada para desenvolvimento de priapismo com base nas variantes genéticas *BCL11A* e *HBS1L-MYB*.

Gene SNP	Comparação	Genótipos	Priapismo+ N (%)	Priapismo - N (%)	OR (IC 95%) Não ajustado	<i>p</i> -value Não ajustado	OR (IC 95%) Ajustado	<i>p</i> -value Ajustado
<i>BCL11A</i> rs4671393	GG vs GA/AA	GG	34 (54,8)	17 (36,2)	1,00			
		GA/AA	28 (45,2)	30 (63,8)	2,14 (0,98-4,66)	0,055	2,29 (1,04-5,07)	0,040*
	AA vs GA/GG	GA/GG	61 (98,4)	46 (97,9)	1,00			
		AA	01 (1,6)	01 (2,1)	0,75 (0,04-12,37)	0,843	0,69 (0,04-11,5)	0,801
GA vs GG/AA	GG/AA	35 (56,5)	18 (38,3)	1,00				
	GA	27 (43,5)	29 (61,7)	0,47 (0,22-1,03)	0,06	0,45 (0,20-0,99)	0,047*	
<i>BCL11A</i> rs1427407	GG vs GT/TT	GG	38 (61,3)	16 (34,0)	1,00			
		GT/TT	24 (38,7)	31 (66,0)	3,06 (1,39-6,76)	0,005*	3,27 (1,46-7,32)	0,004*
	TT vs GGGT	GGGT	61 (98,4)	46 (97,9)	1,00			
		TT	01 (1,6)	01 (2,1)	0,75 (0,04-12,37)	0,843	0,52 (0,03-9,41)	0,664
GT vs GG/TT	GG/TT	39 (62,9)	17 (36,2)	1,00				
	GT	23 (37,1)	30 (63,8)	0,33 (0,15-0,73)	0,006*	0,32 (0,14-0,72)	0,006*	
<i>BCL11A</i> rs11886868	TT vs TC/CC	TT	24 (38,7)	12 (25,5)	1,00			
		TC/CC	38 (61,3)	35 (74,5)	1,84 (0,80-4,23)	0,150	1,89 (0,81-4,36)	0,136
	CC vs TC/TT	TT/TC	54 (87,1)	38 (80,9)	1,00			
		CC	08 (12,9)	09 (19,1)	0,62 (0,22-1,76)	0,376	0,56 (0,19-1,62)	0,287
TC vs TT/CC	TT/CC	32 (51,6)	21 (44,7)	1,00				
	TC	30 (48,4)	26 (55,3)	0,75 (0,35-1,62)	0,474	0,77 (0,36-1,67)	0,517	
<i>HBS1L-MYB</i> rs9399137	TT vs TC/CC	TT	45 (72,6)	37 (78,7)	1,00			
		TC/CC	17 (27,4)	10 (21,3)	0,71 (0,29-1,74)	0,463	0,76 (0,30-1,90)	0,567
	CC vs TC/TT	TT/TC	61 (98,4)	45 (95,7)	1,00			
		CC	01 (1,6)	02 (4,3)	0,36 (0,03-4,19)	0,421	0,22 (0,01-2,91)	0,255
TC vs TT/CC	TT/CC	46 (74,2)	39 (83,0)	1,00				
	TC	16 (25,8)	08 (17,0)	1,69 (0,65-4,38)	0,276	1,64 (0,63-4,28)	0,304	

Os ajustes no modelo multivariado incluem idade, sexo e crises vaso-oclusivas (CVOs) por ano como covariáveis. Os resultados são relatados como odds ratios (OR) com intervalos de confiança (IC) de 95% e valores de *p* correspondentes, onde OR >1 indica risco aumentado, enquanto OR <1 sugere um efeito protetor para a primeira categoria listada. Associações estatisticamente significativas (*p* < 0,05) são destacadas.

Tabela suplementar 5: Regressão logística binária univariada e multivariada para o desenvolvimento da síndrome torácica aguda (STA) com base nas variantes genéticas *BCL11A* e *HBS1L-MYB*.

Gene SNP	Comparação	Genótipos	STA+ N (%)	STA - N (%)	OR (IC 95%) Não ajustado	<i>p</i> -value Não ajustado	OR (IC 95%) Ajustado	<i>p</i> -value Ajustado
<i>BCL11A</i> rs4671393	GG vs GA/AA	GG	38 (55,1)	62 (41,9)	1,00	0,071	1,94 (1,07-3,54)	0,029*
		GA/AA	31 (44,9)	86 (58,1)	1,70 (0,95-3,02)			
	AA vs GA/GG	GA/GG	68 (98,6)	139 (93,9)	1,00	0,164	0,24 (0,03-2,02)	0,193
		AA	01 (1,4)	09 (6,1)	0,22 (0,02-1,82)			
GA vs GG/AA	GG/AA	39 (56,5)	71 (48,0)	1,00	0,242	0,61 (0,33-1,11)	0,108	
	GA	30 (43,5)	77 (52,0)	0,70 (0,39-1,26)				
<i>BCL11A</i> rs1427407	GG vs GT/TT	GG	39 (56,5)	63 (42,6)	1,00	0,056	2,07 (1,13-3,80)	0,018*
		GT/TT	30 (43,5)	85 (57,4)	1,75 (0,98-3,12)			
	TT vs GGGT	GGGT	66 (95,7)	141 (95,3)	1,00	0,901	0,94 (0,22-3,91)	0,939
		TT	03 (4,3)	07 (4,7)	0,91 (0,22-3,65)			
GT vs GG/TT	GG/TT	42 (60,9)	70 (47,3)	1,00	0,064	0,48 (0,26-0,89)	0,020*	
	GT	27 (39,1)	78 (52,7)	0,33 (0,15-0,73)				
<i>BCL11A</i> rs11886868	TT vs TC/CC	TT	23 (33,3)	44 (29,7)	1,00	0,593	1,26 (0,67-2,36)	0,463
		TC/CC	46 (66,7)	104 (70,3)	1,18 (0,64-2,18)			
	CC vs TC/TT	TT/TC	67 (97,1)	122 (82,4)	1,00	0,009*	0,12 (0,02-0,54)	0,006*
		CC	02 (2,9)	26 (17,6)	0,14 (0,03-0,60)			
TC vs TT/CC	TT/CC	25 (36,2)	70 (47,3)	1,00	0,127	1,56 (0,86-2,83)	0,143	
	TC	44 (63,8)	78 (52,7)	1,57 (0,87-2,84)				
<i>HBS1L-MYB</i> rs9399137	TT vs TC/CC	TT	53 (76,8)	95 (64,2)	1,00	0,065	1,77 (0,90-3,49)	0,094
		TC/CC	16 (23,2)	53 (35,8)	1,84 (0,96-3,54)			
	CC vs TC/TT	TT/TC	68 (98,6)	141 (95,3)	1,00	0,260	0,26 (0,03-2,32)	0,232
		CC	01 (1,4)	07 (4,7)	0,29 (0,03-2,45)			
TC vs TT/CC	TT/CC	54 (78,3)	102 (68,9)	1,00	0,156	0,65 (0,33-1,30)	0,233	
	TC	15 (21,7)	46 (31,1)	0,61 (0,31-1,20)				

Os ajustes no modelo multivariado incluem idade, sexo e crises vaso-oclusivas (CVOs) por ano como covariáveis. Os resultados são relatados como odds ratios (OR) com intervalos de confiança (IC) de 95% e valores de *p* correspondentes, onde OR >1 indica risco aumentado, enquanto OR <1 sugere um efeito protetor para a primeira categoria listada. Associações estatisticamente significativas (*p* < 0,05) são destacadas.

Tabela suplementar 6: Associação do Escore de Risco Genético (GRS) com complicações clínicas da AF. Análises de regressão logística avaliando a associação entre o GRS e várias complicações clínicas da AF. As variáveis preditoras incluem GRS, idade (variável contínua), gênero (masculino vs. feminino), e episódios de crises vaso-oclusivas (CVOs) por ano, categorizados como >5 vs. 0–5 eventos.

Complicação clínica	Variável	OR (IC 95%)	p-value
AVC	GRS	1,28 (1,07-1,55)	0,008*
	Idade	1,03 (0,99-1,06)	0,087
	Gênero (M vs F)	1,76 (0,92-3,41)	0,089
	CVOs (>5 vs 0-5)	0,79 (0,24-2,23)	0,677
Osteonecrose	GRS	1,25 (1,05-1,50)	0,013*
	Idade	1,07 (1,04-1,10)	<0,001*
	Gênero (M vs F)	2,64 (1,39-5,13)	0,003*
	VOCs (>5 vs 0-5)	2,54 (1,09-5,92)	0,030*
Úlceras de perna	GRS	1,35 (1,14-1,62)	<0,001*
	Idade	1,08 (1,05-1,12)	<0,001*
	Gênero (M vs F)	3,71 (2,05-6,90)	<0,001*
	CVOs (>5 vs 0-5)	2,03 (0,91-4,61)	0,086
Priapismo	GRS	1,30 (1,02-1,68)	0,040*
	Idade	1,03 (0,99-1,07)	0,186
	CVOs (>5 vs 0-5)	1,81 (0,59-6,22)	0,314
Síndrome Torácica Aguda	GRS	1,33 (1,11-1,62)	0,003*
	Idade	1,02 (0,99-1,05)	0,160
	Gênero (M vs F)	2,09 (1,13-3,92)	0,020*
	CVOs (>5 vs 0-5)	3,36 (1,55-7,47)	0,002*

Os resultados são reportados como razões de chances (OR) com intervalos de confiança (IC) de 95% e valores de p correspondentes, onde OR > 1 indica risco aumentado, enquanto OR < 1 sugere um efeito protetor para a primeira categoria listada.

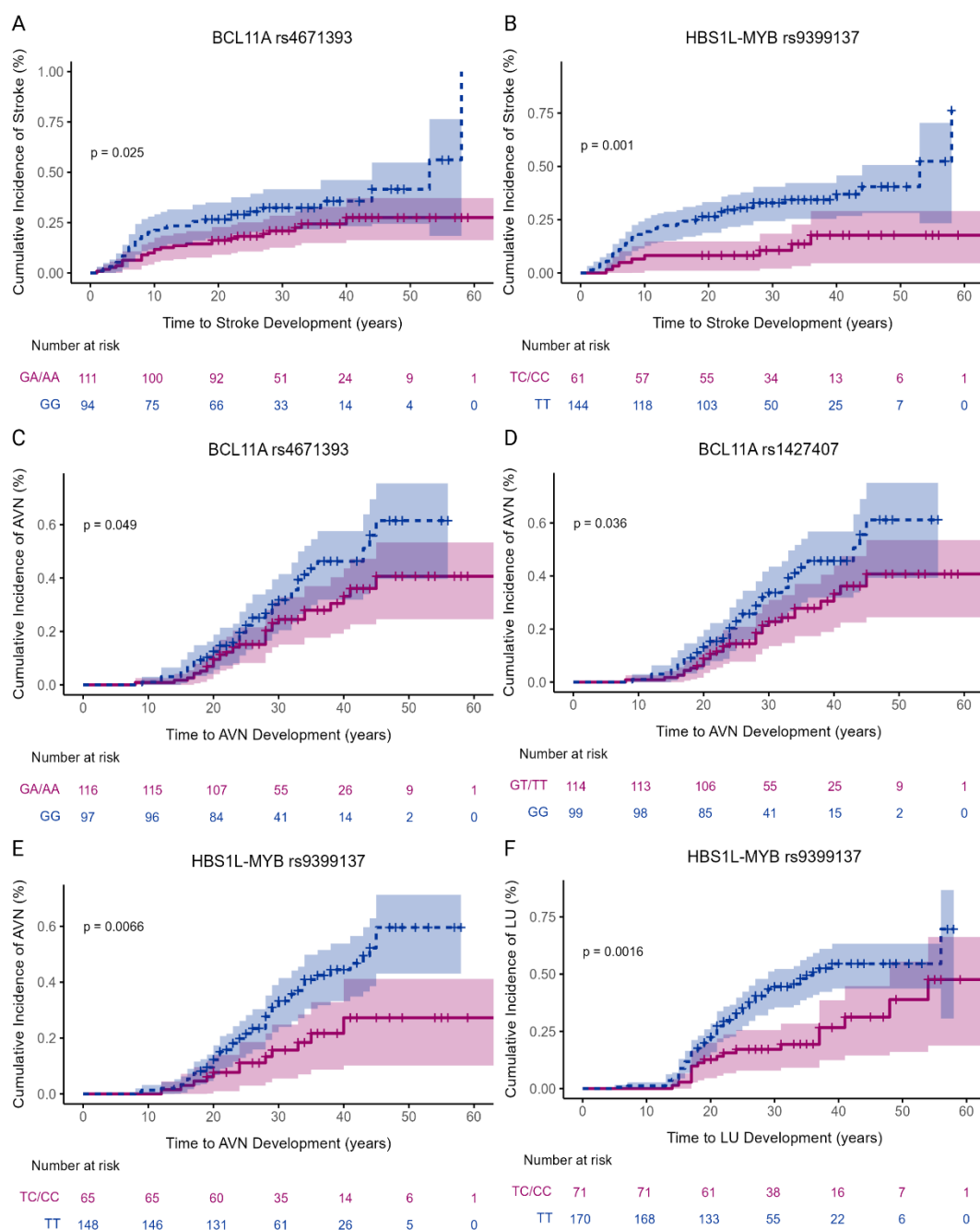


Figura suplementar 1: Curvas de incidência cumulativa de Kaplan-Meier para complicações clínicas em pacientes com AF estratificados por variantes genéticas de *BCL11A* e *HBS1L-MYB*. (A) Associação de *BCL11A* rs4671393 com incidência de AVC. (B) Associação de *HBS1L-MYB* rs9399137 com incidência de AVC. (C) Associação de *BCL11A* rs4671393 com incidência de osteonecrose. (D) Associação de *BCL11A* rs1427407 com incidência de osteonecrose. (E) Associação de *HBS1L-MYB* rs9399137 com incidência de osteonecrose. (F) Associação de *HBS1L-MYB* rs9399137 com incidência de úlcera de perna. As áreas sombreadas representam intervalos de confiança de 95%, e os valores de p indicam a significância estatística das diferenças entre os grupos de genótipos.

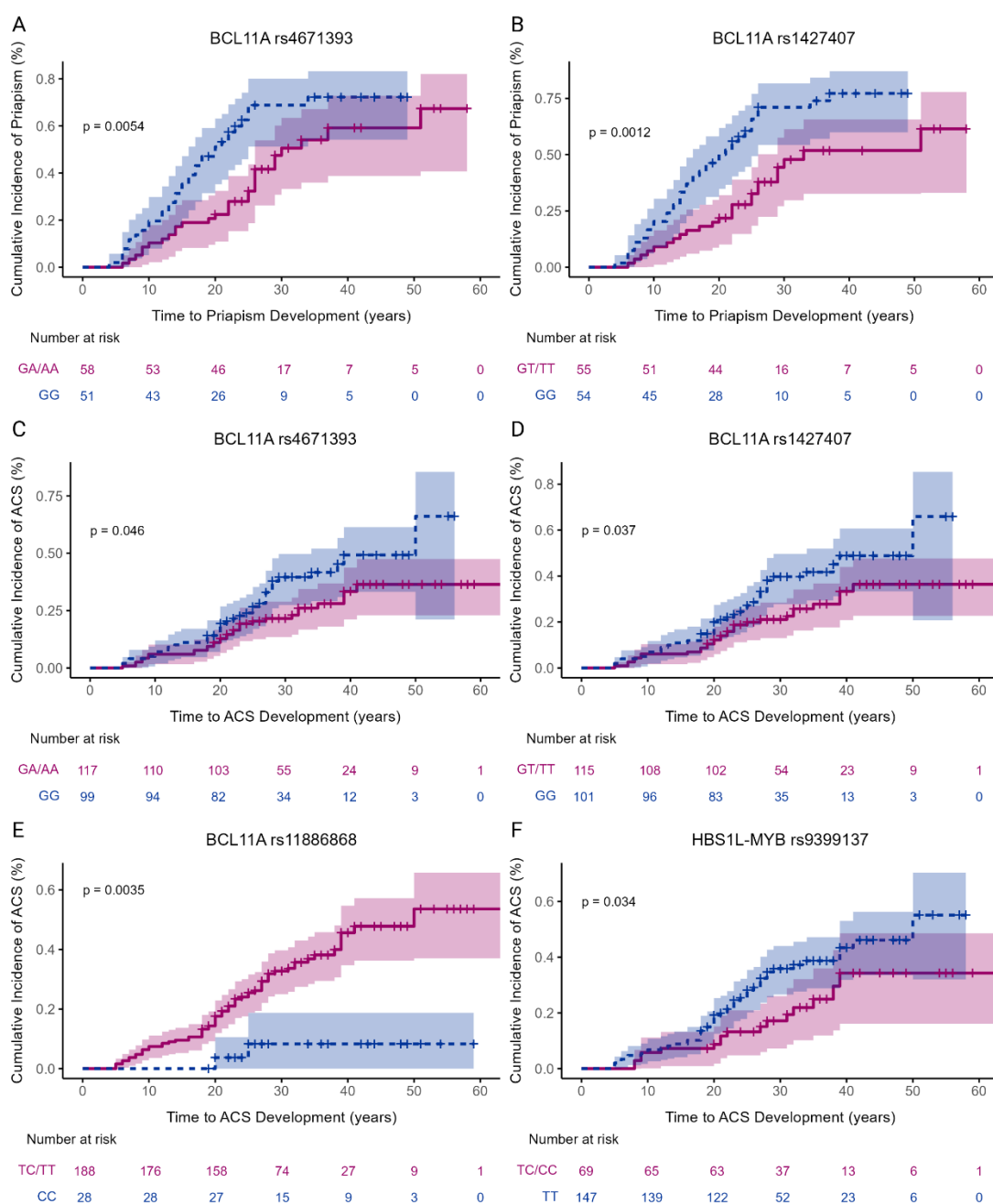


Figura suplementar 2: Curvas de incidência cumulativa de Kaplan-Meier para complicações clínicas em pacientes com AF estratificados por variantes genéticas *BCL11A* e *HBS1L-MYB*. (A) Associação de *BCL11A* rs4671393 com incidência de priapismo. (B) Associação de *BCL11A* rs1427407 com incidência de priapismo. (C) Associação de *BCL11A* rs4671393 com incidência de síndrome torácica aguda (STA). (D) Associação de *BCL11A* rs1427407 com incidência de STA. (E) Associação de *BCL11A* rs11886868 com incidência de STA. (F) Associação de *HBS1L-MYB* rs9399137 com incidência de STA. As áreas sombreadas representam intervalos de confiança de 95%, e os valores de p indicam a significância estatística das diferenças entre os grupos de genótipos.

4 ARTIGO 2 – Análise do transcriptoma de reticulócitos de pacientes com anemia falciforme com níveis altos e baixos de hemoglobina fetal

Artigo a ser submetido para a revista British Journal of Haematology– Fator de impacto: 6.5; Qualis/CAPES Ciências Biológicas I: A1

Gabriela S Arcanjo¹, Alexsandro P Silva¹, Madi V Diniz¹, Igor F Domingos², Diego A Pereira-Martins³, João P M Silva⁴, Sérgio A G Pereira-Junior⁴, Ana C Anjos^{1,5}, Marcos R Chiaratti⁴, Anderson F Cunha⁴, Sara O Saad⁶, Aderson S Araujo⁵, Fernando F Costa⁶, Antonio R Lucena-Araujo¹, Marcos André C Bezerra¹

Afiliações:

¹ Programa de Pós-Graduação em Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil;

² Pronto Socorro Cardiológico de Pernambuco, Universidade de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil;

³ Departamento de Hematologia, Centro de Pesquisa em Câncer de Groningen, Centro Médico Universitário de Groningen, Universidade de Groningen, Groningen, Países Baixos;

⁴ Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, Brasil;

⁵ Departamento de Medicina Interna, Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil;

⁶ Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil

* Autor correspondente: Marcos A C Bezerra. Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Recife, PE 50670-901, Brasil. Tel: +55(81)2126-7825. Fax: +55(81)2126-7825. Email: macbezerra.ufpe@gmail.com

RESUMO

Indivíduos com anemia falciforme (AF) apresentam uma heterogeneidade clínica significativa atribuída a vários fatores, incluindo modificadores genéticos. Níveis de hemoglobina fetal (Hb F) estão associados a um curso clínico mais brando na AF. Dada a importância da Hb F na fisiopatologia da AF, numerosos estudos focaram em descrever como a Hb F melhora o fenótipo clínico e em identificar moduladores previamente não caracterizados da globina gama. Neste estudo, realizamos um experimento de sequenciamento de RNA para analisar o transcriptoma de reticulócitos de pacientes com AF com níveis altos e baixos de Hb F. Selecionamos 8 indivíduos com AF, sendo 4 com níveis altos de Hb F basal (mediana: 20,5%, intervalo: 19,6% - 22,4%) e 4 com níveis baixos de Hb F basal (mediana: 4,1%, intervalo: 0,8% - 5,4%). Identificamos 89 genes diferencialmente expressos (DEGs) e 168 transcritos diferencialmente expressos entre as condições. A anotação funcional revelou que níveis altos de Hb F estão associados à expressão de genes e transcritos relacionados a múltiplos processos, incluindo resposta imune, inflamação, organização do citoesqueleto, equilíbrio de oxidação e redução, apoptose, transdução de sinal intracelular e expressão de RNA. Em resumo, o perfil de expressão de pacientes com níveis altos de Hb F sugere melhor reologia celular, estabilização do citoesqueleto, redução da geração de espécies reativas de oxigênio e inflamação. Além disso, a via de sinalização Wnt/ β -catenina pode estar ativa em pacientes com altos níveis de Hb F, contribuindo para parâmetros aprimorados de reologia celular. Por fim, o transcrito *KDM1A*, um regulador epigenético previamente descrito da hematopoiese, foi regulado negativamente em altos níveis de Hb F, confirmando seu papel na regulação da globina gama.

Palavras-chave: Gama globina; KDM1A; RNA-seq; Doença Falciforme.

INTRODUÇÃO

A anemia falciforme (AF) é uma doença monogênica associada à produção de uma hemoglobina anormal (Hb S), que polimeriza e induz a falcização dos eritrócitos em condições de hipóxia, resultando em hemólise crônica, oclusão microvascular e danos crônicos aos órgãos (1,2). As complicações clínicas subsequentes estão associadas a alta morbidade e mortalidade, embora sua ocorrência e gravidade variem amplamente entre os pacientes com AF (3). Ao longo dos anos, inúmeros modificadores genéticos foram envolvidos na diversidade fenotípica da AF (4,5). Notavelmente, níveis elevados de hemoglobina fetal (Hb F) têm sido associados há muito tempo a um curso clínico mais brando na AF e em outras hemoglobinopatias (6,7).

A Hb F ($\alpha_2\gamma_2$) é um tetrâmero formado pela expressão dos genes *HBG* (genes de gama globina, *HBG1* e *HBG2*) dentro do cluster *HBB* (gene da beta-globina). Níveis elevados de Hb F têm um impacto fisiológico significativo, principalmente por reduzir a concentração intraeritrocitária de Hb S e sua polimerização (8). Tetrâmeros formados com subunidades de gama globina não copolimerizam com a Hb S, prevenindo assim a polimerização. Isso permite que os eritrócitos escapem da microcirculação para vasos maiores antes de ocorrer a falcização (9,10). Sendo assim, na AF, níveis mais altos de Hb F foram associados à redução da mortalidade e morbidade, além de menor frequência de complicações clínicas, como eventos vaso-oclusivos, úlceras nas pernas, osteonecrose, síndrome torácica aguda e AVC (7,11–13). Os potenciais efeitos terapêuticos da Hb F têm sido extensivamente explorados na AF, principalmente por meio da indução farmacológica (hidroxiureia) e, mais recentemente, por edição gênica (14,15).

A Hb F é produzida em altas quantidades durante o estágio fetal do desenvolvimento humano, e diminui progressivamente próximo ao nascimento, resultando em níveis inferiores a 1,0% da Hb total na vida adulta (16). Os mecanismos subjacentes à troca de Hb F envolvem a interação de vários reguladores eritrocitários que formam um complexo repressivo, incluindo *BCL11A*, *SOX6*, *KLF1*, *cMYB*, *DNMT1* e outros (17–19). Deficiências na troca de Hb F levam a altos níveis de Hb F durante a idade adulta. Várias variantes genéticas, principalmente *loci* de traços quantitativos no gene *BCL11A*, na região intergênica *HBS1L-MYB* e no cluster do gene *HBB*, foram associadas aos níveis de Hb F (20–22). Embora essas variantes possam contribuir

significativamente para o aumento nos níveis de Hb F, grande parte da variabilidade ainda permanece inexplicada (23). Portanto, análises genômicas e transcriptômicas extensivas podem ajudar a identificar moduladores previamente não caracterizados dos níveis de Hb F e melhorar a compreensão da regulação dos genes *HBG*. A análise do transcriptoma completo tem sido utilizada para investigar vários aspectos fisiopatológicos e buscar fatores potencialmente envolvidos na expressão de gama globina em hemoglobinopatias (24–29).

Dados publicados na beta talassemia identificaram novos reguladores de Hb F por meio da análise do transcriptoma de reticulócitos (25). O perfil de expressão de reticulócitos imaturos também foi investigado por meio de microarranjo e metodologias SAGE para identificar mecanismos relacionados ao tratamento com hidroxureia e à reativação de *HBG* na AF (28,30). Reticulócitos, hemácias imaturas que circulam no sangue periférico, representam o estágio final da maturação eritroide. Essas células contêm material genético residual de precursores iniciais e expressam genes associados à regulação e à síntese de hemoglobina, incluindo a Hb F (31,32). Portanto, aqui buscamos investigar o transcriptoma de reticulócitos de pacientes com AF com níveis basais variáveis de Hb F para buscar perfis de expressão funcional únicos relacionados à reativação de Hb F.

MÉTODOS

Recrutamento de Pacientes

Pacientes com anemia falciforme (genótipo SS), maiores de 18 anos e acompanhados regularmente em um centro de referência no nordeste do Brasil, foram recrutados. Para confirmar a homozigose da hemoglobina S, todas as amostras foram submetidas à análise de restrição de um fragmento amplificado por PCR do gene da beta-globina (*HBB*) utilizando a enzima *DdeI*, além da quantificação de hemoglobinas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (Variant IITM, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA). Pacientes que recebiam transfusões sanguíneas crônicas, terapia com hidroxureia e aqueles com internações devido a crises vaso-oclusivas ou complicações relacionadas nos 3 meses anteriores à coleta de sangue foram excluídos. Finalmente, com base nos dados de Hb F previamente coletados, 8

pacientes foram selecionados, sendo 4 com altos níveis basais de Hb F (>20%) e 4 com baixos níveis de Hb F (<5,0%).

Os dados clínicos foram obtidos retrospectivamente dos prontuários médicos. Amostras de sangue periférico foram coletadas em um único momento, no momento do recrutamento dos pacientes. Essas amostras foram coletadas para determinar todas as características laboratoriais basais e para realizar a extração de DNA e RNA. Os níveis de Hb F de todos os pacientes foram confirmados por meio de quantificação por HPLC. A contagem sanguínea e os parâmetros bioquímicos foram determinados utilizando o analisador hematológico Sysmex XN-1500™ e o sistema de química VITROS® 4600 (Ortho Clinical Diagnostics). Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa local (CAAE: 42396621.0.3001.5195) e, o consentimento informado foi obtido de todos os participantes antes do início do estudo

Extração de DNA

O DNA foi extraído de leucócitos pelo método padrão de fenol-clorofórmio (33). A técnica de gap-PCR foi utilizada para determinar a co-herança com a deleção de -3.7Kb da alfa-talassemia (34). Os haplótipos do cluster do gene da β^S -globina também foram determinados conforme descrito previamente (35).

Isolamento de Reticulócitos

Os reticulócitos foram isolados conforme procedimentos descritos previamente (36). As células do sangue periférico foram centrifugadas, e o plasma foi removido. Os eritrócitos foram então lisados com solução de lise de hemácias (0,144 mol/l NH₄Cl, 0,01 mol/l NH₄HCO₃), e as amostras centrifugadas. O sobrenadante foi homogeneizado com uma solução de sucrose/KCl (1,5 mol/l C₁₂H₂₂O₁₁, 0,15 mol/l KCl). Após centrifugação, o sobrenadante contendo os reticulócitos foi tratado com 700 µl de ácido acético a 10% e centrifugado novamente. O pellet restante de reticulócitos foi utilizado para a extração de RNA.

Extração de RNA e Construção de Bibliotecas de cDNA

O RNA total foi extraído do pellet de reticulócitos utilizando o kit RNeasy mini (Qiagen GmbH, Hilden, Alemanha), de acordo com o protocolo do fabricante. A quantidade e a pureza do RNA extraído foram medidas pelo fluorímetro Qubit (Thermo Scientific, Carlsbad, CA, EUA). A integridade do RNA foi determinada utilizando o sistema Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) e o kit RNA Nano Chip. As bibliotecas de RNA-seq foram construídas utilizando o kit QIAseq Stranded mRNA Lib Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Alemanha), com o kit QIAseq FastSelect Globin Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Alemanha) para remoção de mRNA globínico, conforme as instruções do fabricante. As bibliotecas foram submetidas ao Agilent Bioanalyzer (Agilent, Santa Clara, CA) para controle de qualidade.

Experimento de Sequenciamento de RNA e Análise de Dados

As bibliotecas foram sequenciadas no modo *paired-end* no NextSeq 500 para gerar leituras de 2 x 76 bp utilizando kits Illumina (Illumina, San Diego, CA, EUA), gerando uma média de 51,1 milhões de *reads* por biblioteca. Os dados em formato FASTQ foram processados utilizando o software QIAGEN CLC Genomics Workbench (Qiagen, Alemanha) (<https://digitalinsights.qiagen.com>). A normalização e a detecção de expressão diferencial de genes foram realizadas com o pacote R DESeq2 (37). Durante essa etapa, as amostras de pacientes com AF com altos níveis de Hb F e baixos níveis de Hb F foram comparadas. Genes foram incluídos nas comparações se apresentassem pelo menos dez leituras na maioria das amostras de cada grupo.

Genes com valor absoluto de \log_2 *fold change* >1 ou <-1 e com um valor de p, corrigido pela abordagem FDR, < 0,10 foram descritos como diferencialmente expressos e considerados para análises posteriores. Realizamos essa análise tanto para avaliar a expressão diferencial de genes (DGE) quanto para a expressão diferencial de transcritos (DTE). A análise de componentes principais (PCA) foi realizada utilizando transformação regularizada de log (rlog). O *Volcano plot* foi gerado utilizando o pacote enhancedVolcano no R para refletir o contraste específico do valor de p ajustado e do \log_2 *fold change*. Os *heatmaps* foram construídos utilizando os dados normalizados de expressão gênica com o pacote ComplexHeatmap (38).

Análise Funcional

A análise funcional de enriquecimento de genes e transcritos diferencialmente expressos foi realizada com o Gene Ontology (GO) na ferramenta online DAVID (versão 6.7, <https://david.ncicrf.gov/>). A GO foi utilizada para anotar e classificar os genes com base nos termos da GO para processo biológico (BP), componente celular (CC) e função molecular (MF). O número de genes foi calculado para cada termo da GO. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados vias biológicas enriquecidas significativamente diferentes. Gráficos de rede foram construídas utilizando os pacotes R *enrichplot* e *clusterProfiler* para exibir os genes envolvidos nos termos significativamente enriquecidos. As visualizações gráficas necessárias foram criadas utilizando o pacote *ggplot2* da versão 4.3.1 do software R (The CRAN project, www.r-project.org).

RESULTADOS

Características dos Pacientes

Os pacientes selecionados foram divididos de acordo com os níveis de Hb F. O grupo com altos níveis de Hb F consistiu em 4 pacientes com anemia falciforme, com uma mediana de Hb F de 20,5% (intervalo: 19,6% - 22,4%), sendo 1 homem e 3 mulheres, com mediana de idade de 26 anos (21 – 45 anos). O grupo com baixos níveis de Hb F consistiu em 4 pacientes, com mediana de Hb F de 4,1% (intervalo: 0,8% - 5,4%), incluindo 2 homens e 2 mulheres, com mediana de idade de 29 anos (20 – 42 anos) (Tabela 1). No geral, os pacientes do grupo de Hb F elevado apresentaram melhores parâmetros hematológicos (níveis mais altos de hemoglobina total e menor contagem de leucócitos) e níveis reduzidos de marcadores hemolíticos (bilirrubina, desidrogenase láctica e reticulócitos) em comparação com o grupo de Hb F baixo.

A genotipagem para os modificadores clássicos da AF revelou que todos os pacientes do grupo de Hb F baixo apresentaram o haplótipo CAR/CAR e genótipo normal para alfa-talassemia ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$). No grupo de Hb F elevado, 1 paciente era heterozigoto para o haplótipo (CAR/BEN) e 1 era heterozigoto para alfa-talassemia -^{3.7kb} ($\alpha\alpha/-\alpha$). Clinicamente, os pacientes com Hb F elevado tiveram menos episódios

de crises vaso-oclusivas (CVOs) por ano e menor incidência de complicações agudas e crônicas (Tabela 1).

Determinação dos Genes e Transcritos Diferencialmente Expressos

Foi realizada uma análise do transcriptoma completo para explorar os perfis de transcrição de reticulócitos de pacientes com AF com altos níveis basais de Hb F em comparação com pacientes com baixos níveis de Hb F. A análise de componentes principais (PCA) foi plotada para visualizar os perfis globais de expressão de acordo com os grupos de Hb F. Pode-se observar que não houve uma diferença significativa entre a clusterização dos grupos (Figura 1A). Os genes que obtiveram $FDR < 0,10$ e $\log_2 \textit{fold change} \geq 1$ ou -1 foram estabelecidos como estatisticamente significativos. Assim, 89 DEGs foram identificados ao comparar os grupos. Dentre esses DEGs, 77 (87%) foram regulados positivamente e 12 (13%) foram regulados negativamente (Tabelas Suplementares 1 e 2). Para visualizar a diferença na expressão entre os grupos, foi construída uma representação gráfica em formato de *heatmap* (Figura 1B). Além disso, foi construído um *volcano plot* dos genes diferencialmente regulados com valores de p ajustados de $< 0,10$ e *fold change* de < -1 ou > 1 (Figura 1C).

Considerando o potencial dos altos níveis de transcritos de globina em prejudicar a sensibilidade na análise de RNA-seq de células eritroides, optamos por depletar transcritos abundantes de globina e RNAs ribossômicos durante a geração das bibliotecas de RNA-seq, para melhorar a detecção de transcritos de baixa abundância. Isso resultou na redução dos transcritos de globina, mas ainda permitiu sua detecção. Portanto, os principais genes regulados positivamente de forma diferencial incluíram o gene *CLEC12A* (C-type lectin domain family 12 member A) com o menor p ($1,60E-10$) e *fold change* de 3,04. *HBG2* e seus parálogos também apareceram como genes mais expressos (Tabela 2). Além disso, a expressão de nenhum dos reguladores conhecidos da globina gama (*BCL11A*, *GATA-1*, *KLF1*, *cMYB*, *SOX6* e *ZBTB7A*) mostrou diferença significativa na expressão entre os grupos (Figura 2).

A análise da expressão dos transcritos revelou 168 transcritos diferencialmente expressos (variantes de *splicing*), pertencentes a 162 genes exclusivos, no grupo de Hb F alta em comparação com o grupo de Hb F baixa. Dentre esses, 87 (52%) foram

regulados positivamente e 81 (48%) foram regulados negativamente (Tabelas Suplementares 3 e 4). A diferença na expressão entre os grupos foi ilustrada com um *heatmap* (Figura 3B), e o *volcano plot* exibiu os transcritos diferencialmente regulados com valores de p ajustados de $< 0,10$ e \log_2 *fold change* de < -1 ou > 1 (Figura 3C). Dos genes diferencialmente expressos com *splicing* alternativo (162 genes), 20 genes se intersectaram com o conjunto de genes diferencialmente expressos (Figura 4). Entre os transcritos mais diferencialmente expressos, destaca-se o fator de transcrição *TAF3* (*TATA-Box Binding Protein Associated Factor 3*) (Tabela 3). Além disso, transcritos de genes diferencialmente expressos, como *CLEC12A* e *HBG2*, também foram diferencialmente expressos entre os grupos (Tabela Suplementar 3).

Análise de Enriquecimento Funcional de Genes e Transcritos Diferencialmente Expressos

As análises de enriquecimento foram realizadas para os genes diferencialmente expressos e os genes dos transcritos diferencialmente expressos. Um total de 86 DEGs foram anotados no banco de dados Gene Ontology. Os resultados da análise GO foram classificados de acordo com o processo biológico (BP), função molecular (MF) e componente celular (CC). Obtiveram-se 82 itens de enriquecimento significativos para BP, 15 itens de enriquecimento significativos para MF e 12 itens de enriquecimento significativos para CC ($P < 0,05$). Em cada classificação GO, os principais termos foram selecionados e plotados para visualização (Figura 5A, B e C). Os resultados mostraram um considerável enriquecimento nos termos GO de processos biológicos relacionados à resposta imune, como via de sinalização reguladora de resposta imune, ativação da resposta imune, via de sinalização de receptor de superfície celular reguladora de resposta imune e transdução de sinal ativadora de resposta imune (Figura Suplementar 1). Além disso, processos biológicos relacionados à organização do citoesqueleto celular foram enriquecidos: polimerização de filamentos de actina, processo baseado em filamento de actina, polimerização ou despolimerização de actina e organização do citoesqueleto de actina.

Para os genes com transcritos diferencialmente expressos, as análises de enriquecimento GO foram realizadas considerando os conjuntos de genes regulados positivamente e negativamente de forma separada. Para os genes regulados

positivamente, em BP, 117 termos significativos foram enriquecidos, seguidos por 26 itens de enriquecimento significativos para MF e 20 itens de enriquecimento significativos para CC. A análise revelou que muitos genes estavam envolvidos em processos biológicos relacionados à transdução de sinal celular (Figura 6A, B e C). Os seguintes termos GO foram enriquecidos em BP: transdução de sinal intracelular, regulação da transdução de sinal intracelular e regulação negativa da transdução de sinal. Além disso, a função molecular da maioria dos genes com transcritos regulados positivamente foi enriquecida nos termos regulador de função molecular, atividade de regulador de enzimas, ligação de nucleotídeo e ligação de fosfato de nucleosídeo. Curiosamente, alguns dos genes também estavam relacionados à atividade de fator de transcrição.

No conjunto de genes regulados negativamente, 195 termos significativos foram enriquecidos em BP, 30 termos foram enriquecidos para MF e 22 foram enriquecidos para CC. Muitos genes estavam associados ao processo de morte celular (regulação negativa do processo apoptótico, regulação negativa da morte celular programada e regulação negativa da morte celular), processo metabólico (regulação positiva do processo metabólico de macromoléculas, regulação positiva do processo metabólico celular e regulação positiva do processo metabólico) e expressão gênica (regulação positiva da expressão gênica, transcrição do promotor da RNA polimerase I e regulação do processo metabólico do RNA). A função molecular de vários genes foi enriquecida nos termos ligação de composto heterocíclico, ligação de composto cíclico orgânico, ligação de ácido nucleico e ligação de RNA (Figura 6A, B e C).

DISCUSSÃO

O estudo da expressão da gama-globina na AF forneceu diversos *insights* sobre o potencial terapêutico da Hb F. Especificamente, a terapia com HU, um agente conhecido por aumentar os níveis de Hb F, levou a inúmeras melhorias na qualidade de vida e na sobrevivência dos pacientes. Para explorar as diferenças induzidas por altos níveis de Hb F na vida adulta e os benefícios da terapia com HU, análises abrangentes de expressão têm sido empregadas em hemoglobinopatias (24,25,28,39). Nesse contexto, nosso objetivo foi investigar as diferenças no perfil

transcricional dos reticulócitos de pacientes com AF que apresentam níveis altos e baixos de Hb F.

A análise dos DEGs não revelou grandes diferenças entre os dois grupos, com apenas 89 DEGs detectados. A maioria dos estudos de RNA-seq na AF comparou as diferenças de expressão gênica entre pacientes com AF e indivíduos com hemoglobina AA normal (Hb AA) (26,31) ou avaliou diferenças entre pacientes com AF sob condições específicas, como crise vaso-oclusiva (27), síndrome torácica aguda (40) e terapia com HU (28). Portanto, era esperado um perfil de expressão mais distinto. Em nosso estudo, os pacientes de ambos os grupos não estavam em tratamento com HU ou transfusão sanguínea e encontravam-se em estado estável, tornando-os muito semelhantes em termos de expressão global. Isso nos permitiu investigar variações gênicas específicas relacionadas à expressão da gama-globina e determinar se perfis de expressão distintos emergiam do impacto dos níveis de Hb F.

Na análise dos genes diferencialmente expressos, a maioria foi regulada positivamente. O gene *CLEC12A* foi um dos mais diferencialmente expressos, enquanto o gene *HBG2*, que codifica uma das cadeias da HbF, também apresentou maior expressão no grupo de Hb F elevado. Curiosamente, vários DEGs foram enriquecidos em vias relacionadas à inflamação, defesa celular e resposta imune, incluindo *PYCARD*, *BTNL8*, *PAK1*, *TYROBP*, *TRAT1*, *NINJ1*, *IFNAR2-IL10RB*, *CFP*, *PRAM1*, *SH2B2*, *SPG21*, *CMKLR1*. A principal função dos eritrócitos humanos está relacionada ao transporte e entrega de oxigênio. No entanto, evidências crescentes sugerem que essas células também desempenham um papel fundamental em diversos aspectos do sistema imunológico.

A análise do transcriptoma de células eritroides nucleadas humanas provenientes da medula óssea adulta, do sangue do cordão umbilical e do parênquima hepático fetal revelou uma grande similaridade na expressão gênica com os reticulócitos, com enriquecimento de diversos genes em termos relacionados à imunidade (41). A alta expressão de *PYCARD* foi identificada nas últimas fases de maturação dos precursores eritroides nucleados humanos (42). Essas observações corroboram a hipótese de que células da linhagem eritrocítica humana, incluindo os reticulócitos, possuem potencial para participar de mecanismos de resposta imune e inflamação.

Vários genes foram enriquecidos em termos associados à polimerização/despolimerização e organização da actina. *PAK1*, *WASH6P*, *WASHC1*, *MSRB1* e *MSRB2* estavam todos regulados positivamente no grupo com altos níveis de Hb F, e de acordo com a função desses genes, esse achado sugere que os reticulócitos com altos níveis de Hb F podem apresentar melhor reologia celular, maior estabilização do citoesqueleto e redução na geração de espécies reativas de oxigênio. Esses achados estão de acordo com o fato de que níveis elevados de Hb F na AF, sejam basais ou induzidos pela HU, estão associados a uma melhor reologia dos eritrócitos falcizados (43). Além disso, a Hb F, ao reduzir a falcização intravascular, leva à redução do estresse oxidativo e ao aumento da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) (44).

Observamos que, no grupo com altos níveis de Hb F, os genes *EPB41L4A* e *DACT1* estavam regulados negativamente, enquanto o gene *WLS* estava regulado positivamente. *EPB41L4A*, *DACT1* e *WLS* estão envolvidos na regulação do citoesqueleto e na via de sinalização Wnt/ β -catenina, sugerindo que altos níveis de Hb F podem estar associados à ativação dessa via (45 – 47). A via Wnt/ β -catenina regula processos celulares essenciais, incluindo a diferenciação de células hematopoiéticas. Sua ativação em eritrócitos humanos foi associada à maior flexibilidade e resistência da membrana celular, além de aumento do tempo de vida (48). Além disso, foi observado que a proteína ANTXR1 pode influenciar a expressão da gama globina por meio da via Wnt/ β -catenina, indicando um possível papel desta via na regulação dos níveis de Hb F (49, 50). Com base nisso, sugerimos que a ativação da via de sinalização Wnt/ β -catenina pode contribuir para a melhora da função do citoesqueleto eritrocitário na AF, e esse efeito pode estar relacionado, em certa medida, à regulação da expressão da gama globina e aos altos níveis de Hb F.

O RNAseq é uma metodologia que pode detectar genes expressos e quantificar versões alternativas de genes individuais. Assim, identificamos 168 transcritos diferencialmente expressos pertencentes a 162 genes exclusivos. O transcrito mais regulado positivamente foi *NEDD4L-225*, transcrito pelo gene *NEDD4L*, que está envolvido em processos como endocitose, transporte vesicular e regulação positiva de processos multicelulares. Esse gene codifica uma proteína que medeia a ubiquitinação de múltiplos alvos, direcionando-os para a degradação lisossomal (51). Um estudo recente avaliando o transcriptoma de reticulócitos na AF identificou

NEDD4L, entre 54 genes cuja expressão eritroide estava associada a uma eritropoiese mais eficaz, refletida por níveis mais altos de hemoglobina e hematócrito. A maioria desses genes estava relacionada à ubiquitinação de proteínas, sugerindo que a regulação positiva desse processo pode reduzir o dano oxidativo causado pela polimerização da Hb S nos eritrócitos (31).

Dentre os transcritos regulados negativamente, encontramos o *KDM1A-207* (LSD1), o qual foi enriquecido em vias biológicas relacionadas com processos de metabolismo e transcrição de RNA. O gene *KDM1A* promove a desmetilação de lisinas, especialmente na histona H3, contribuindo para a repressão epigenética da expressão gênica. Esse gene é essencial para o desenvolvimento normal dos eritrócitos e faz parte de um complexo, juntamente com o BCL11A, associado à repressão da expressão da gama globina (52, 53). A inibição farmacológica do *KDM1A*, por meio de inibidores como tranilcipromina (TCP) e RN-1, demonstrou aumentar a expressão da gama globina em progenitores eritroides humanos e modelos animais (54 – 56). Portanto, nossos achados confirmam que a redução da expressão de *KDM1A* está associada a níveis mais elevados de Hb F, reforçando seu papel como um regulador epigenético da expressão da gama globina.

Por fim, outro transcrito regulado negativamente, *ASH1L-214*, está envolvido em modificações epigenéticas por meio de sua atividade metiltransferase de histonas. Esse gene foi identificado como um possível regulador da beta globina na β -talassemia, estando correlacionado com a diferenciação de progenitores eritroides humanos e a expressão da beta globina (57). Nossos achados sugerem que *ASH1L* também pode desempenhar um papel na regulação da gama globina, embora essa hipótese ainda precise de validação experimental.

O uso de reticulócitos pode representar uma limitação, pois essas são células mais tardias na diferenciação eritroide, podendo diferir dos precursores eritroides iniciais encontrados na medula óssea. No entanto, eles mantêm um perfil de expressão gênica semelhante ao dos precursores hematopoiéticos, o que os torna uma população celular adequada para investigar a síntese de hemoglobina. Além disso, a falta de validação experimental dos genes diferencialmente expressos constitui uma limitação do nosso estudo. Assim, análises adicionais em coortes maiores ainda são necessárias para confirmar e aprofundar as associações identificadas.

Em resumo, o padrão de expressão sugere que reticulócitos de pacientes com níveis elevados de Hb F apresentam melhora na reologia celular, estabilização do citoesqueleto e redução da geração de espécies reativas de oxigênio. A via de sinalização Wnt/ β -catenina pode estar mais ativa em pacientes com altos níveis de Hb F, contribuindo para melhores parâmetros de reologia celular. Finalmente, o transcrito de *KDM1A*, foi regulado negativamente em altos níveis de Hb F, confirmando seu papel na regulação da gama-globina, enquanto o gene *ASH1L* pode ser um potencial modulador da gama globina. Assim, a identificação de genes e vias biológicas associadas pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas voltadas para a indução da HbF, o que poderia representar um avanço no manejo da doença.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

G.S.A. realizou experimentos, análises bioinformáticas e estatísticas, interpretou os dados e redigiu o manuscrito. A.P.S., M.V.D., I.F.D., D.A.P-M. atualizaram os dados clínicos, realizaram análises laboratoriais, interpretaram os dados e revisaram o manuscrito. J.P.M.S., S.A.G.P-J e M.R.C. realizaram experimentos de sequenciamento de RNA e análise bioinformática. A.C.A. e A.S.A. recrutaram pacientes, garantiram o acesso às amostras dos pacientes e atualizaram os dados clínicos. A.F.C., S.O.S., F.F.C., A.R.L-A. e M.A.C.B. conceberam e projetaram o estudo, analisaram e interpretaram os dados, e revisaram o manuscrito. M.A.C.B. deu a aprovação final da versão a ser submetida.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a todos os pacientes com AF inscritos e à equipe médica e técnica da Fundação HEMOPE pela colaboração neste estudo.

INFORMAÇÕES DE FINANCIAMENTO

Este trabalho foi apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, #408710/2021-7), e pela Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE, #APQ-1212-2.02/22).

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores não têm interesses financeiros conflitantes a declarar.

DECLARAÇÃO ÉTICA

O comitê local de ética em pesquisa aprovou este estudo e o consentimento informado foi obtido de todos os participantes antes do início do estudo.

REFERÊNCIAS

1. Piccin A, Murphy C, Eakins E, Rondinelli M, Daves M, Vecchiato C, et al. Insight into the complex pathophysiology of sickle cell anemia and possible treatment. *Eur J Haematol*. 2019;102(4):319–30.
2. Kato GJ, Piel FB, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, et al. Sickle cell disease. *Nat Rev Dis Primers* [Internet]. 2018;4(18010):1–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2018.10>
3. Ballas SK, Lieff S, Benjamin LJ, Dampier CD, Heeney MM, Hoppe C, et al. Definitions of the phenotypic manifestations of sickle cell disease. Vol. 85, *American Journal of Hematology*. 2010. p. 6–13.
4. Fertrin KY, Costa FF. Genomic polymorphisms in sickle cell disease: implications for clinical diversity and treatment. *Expert Rev Hematol*. 2010;3(4):443–58.
5. Steinberg MH. Genetic etiologies for phenotypic diversity in sickle cell anemia. *ScientificWorldJournal*. 2009;9:46–67.
6. Akinsheye I, Alsultan A, Solovieff N, Ngo D, Baldwin CT, Sebastiani P, et al. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. *Blood*. 2011;118(1):19–27.
7. Bhatnagar P, Keefer J, Casella J, Barron-Casella E, Bean C, Hooper C, et al. Association Between Baseline Fetal Hemoglobin Levels and Incidence of Severe Vaso-Occlusive Pain Episodes in Children With Sickle Cell Anemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2013;60(February):125–7.
8. Eaton WA, Bunn HF. Treating Sickle Cell Disease by Targeting HbS Polymerization. *Blood*. 2017;2017:1–18.
9. Lettre G, Bauer DE. Fetal haemoglobin in sickle-cell disease: From genetic epidemiology to new therapeutic strategies. *The Lancet* [Internet].

2016;387(10037):2554–64. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01341-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01341-0)

10. Steinberg MH. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. *Blood* [Internet]. 2020;136(211):2392–400. Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/136/21/2392/1789980/bloodbld2020007645.pdf>

11. Perrine RP, Pembrey ME, John P, Perrine S, Shoup F. Natural history of sickle cell anemia in Saudi Arabs. A study of 270 subjects. *Ann Intern Med*. 1978;88(1):1–6.

12. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, Barton FB, Eckert S V., et al. Effect of Hydroxyurea on the Frequency of Painful Crises in Sickle Cell Anemia. *New England Journal of Medicine*. 1995;332(20):1317–22.

13. Domingos IF, Pereira-Martins DA, Borges-Medeiros RL, Falcao DA, Hatzlhofer BL, Brewin JN, et al. Evaluation of oxidative stress-related genetic variants for predicting stroke in patients with sickle cell anemia. *J Neurol Sci* [Internet]. 2020;414(April):116839. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116839>

14. Platt OS. Hydroxyurea for the Treatment of Sickle Cell Anemia. *N Engl J Med*. 2008;358:1362–9.

15. Hardouin G, Magrin E, Corsia A, Cavazzana M, Miccio A, Semeraro M. Sickle Cell Disease: From Genetics to Curative Approaches. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2023;24:255–75.

16. Venkatesan V, Srinivasan S, Babu P, Thangavel S. Manipulation of Developmental Gamma-Globin Gene Expression: an Approach for Healing Hemoglobinopathies. *Mol Cell Biol*. 2021;41(1):1–18.

17. Sankaran VG, Orkin SH. The Switch from Fetal to Adult Hemoglobin. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;

18. Liu N, Hargreaves V V., Zhu Q, Kurland J V., Hong J, Kim W, et al. Direct Promoter Repression by BCL11A Controls the Fetal to Adult Hemoglobin Switch. *Cell* [Internet]. 2018;173(2):430-442.e17. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.016>

19. Vinjamur DS, Alhashem YN, Mohamad SF, Amin P, Williams DC, Lloyd JA. Krüppel-Like transcription factor KLF1 Is required for optimal γ - and β -globin expression in human fetal erythroblasts. *PLoS One*. 2016;11(2):1–12.

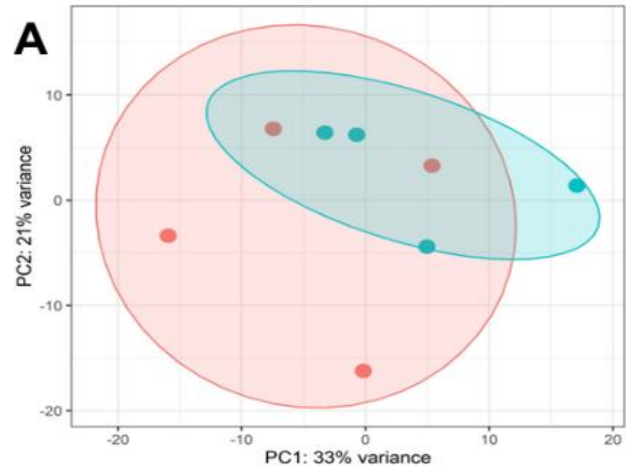
20. Menzel S, Thein SL. Genetic Modifiers of Fetal Haemoglobin in Sickle Cell Disease. *Mol Diagn Ther* [Internet]. 2019;23(2):235–44. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40291-018-0370-8>

21. Mohammad SNNA, Ibrahım S, Wan Ab Rahman WS, Hassan MN, Edinur HA, Azlan M, et al. Single Nucleotide Polymorphisms in XMN1-HBG2, HBS1L-MYB, and BCL11A and Their Relation to High Fetal Hemoglobin Levels That Alleviate Anemia. *Diagnostics*. 2022;12(6):1–13.

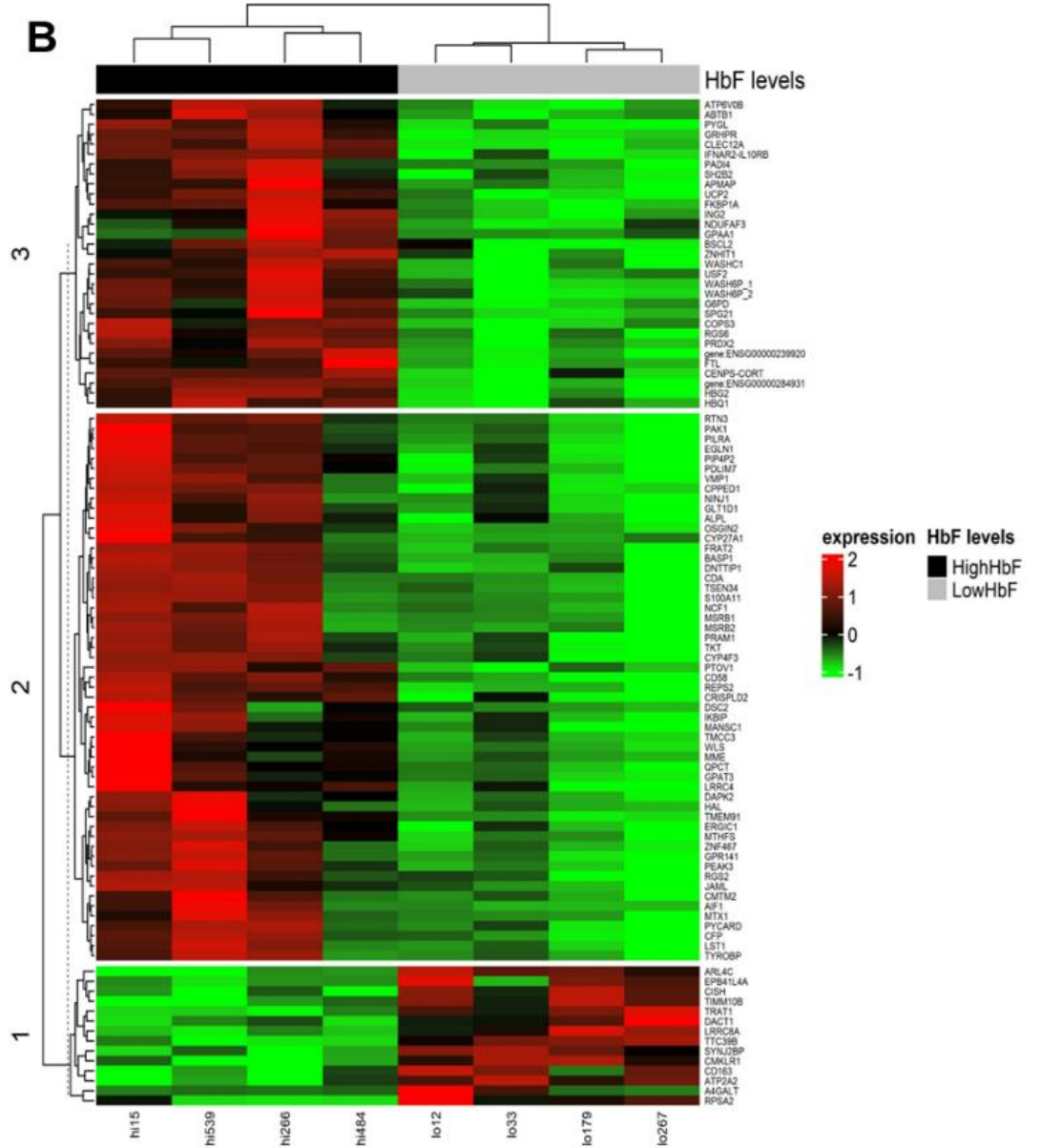
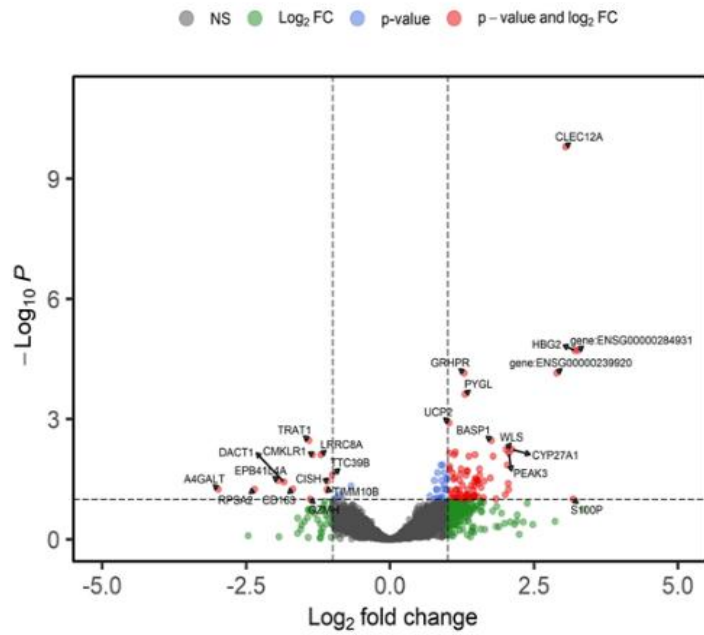
22. Sales RR, Belisário AR, Faria G, Mendes F, Luizon MR, Viana MB. Functional polymorphisms of BCL11A and HBS1L-MYB genes affect both fetal hemoglobin level and clinical outcomes in a cohort of children with sickle cell anemia. *Ann Hematol.* 2020;99(7):1453–63.
23. Steinberg MH. Fetal hemoglobin in sickle hemoglobinopathies: High HbF genotypes and phenotypes. *J Clin Med.* 2020 Nov 1;9(11):1–10.
24. Chondrou V, Kolovos P, Sgourou A, Kourakli A, Pavlidaki A, Kastrinou V, et al. Whole transcriptome analysis of human erythropoietic cells during ontogenesis suggests a role of VEGFA gene as modulator of fetal hemoglobin and pharmacogenomic biomarker of treatment response to hydroxyurea in β -type hemoglobinopathy patients. *Hum Genomics.* 2017;11(1):1–11.
25. Petruzzelli R, Gaudino S, Amendola G, Sessa R, Puzone S, Di Concilio R, et al. Role of the cold shock domain protein A in the transcriptional regulation of HBG expression. *Br J Haematol.* 2010;150(6):689–99.
26. Gee BE, Pearson A, Buchanan-Perry I, Simon RP, Archer DR, Meller R. Whole Blood Transcriptome Analysis in Children with Sickle Cell Anemia. *Front Genet.* 2022;12(January):1–14.
27. Abdulwahab H, Aljishi M, Sultan A, Al-Kafaji G, Sridharan K, Bakhiet M, et al. Whole blood transcriptomic analysis reveals PLSCR4 as a potential marker for vaso-occlusive crises in sickle cell disease. *Sci Rep [Internet].* 2021;11(1):1–9. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01702-8>
28. Flanagan JM, Steward S, Howard TA, Mortier NA, Kimble AC, Aygun B, et al. Hydroxycarbamide alters erythroid gene expression in children with sickle cell anaemia. *Br J Haematol.* 2012;157(2):240–8.
29. Bertozzo V de H e., da Silva Costa SM, Ito MT, Cruz PRS da, Souza BB, Rios VM, et al. Comparative transcriptome analysis of endothelial progenitor cells of HbSS patients with and without proliferative retinopathy. *Exp Biol Med.* 2023;248(8):677–84.
30. Chagas Costa F, Ferreira Da Cunha A, Fattori A, De Sousa Peres T, Gilson Lacerda Costa G, Ferraz Machado T, et al. Gene expression profiles of erythroid precursors characterise several mechanisms of the action of hydroxycarbamide in sickle cell anaemia. *Br J Haematol.* 2007;136(2):333–42.
31. Zhang X, Song J, Shah BN, Han J, Hassan T, Miasniakova G, et al. Gene expression changes in sickle cell reticulocytes and their clinical associations. *Sci Rep [Internet].* 2023;13:12864. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40039-2>
32. Goh S ho, Josleyn M, Lee YT, Danner RL, Gherman RB, Cam MC, et al. The human reticulocyte transcriptome. *Physiol Genomics.* 2007;30:172–8.
33. Davis L, Dibner M, Battery J. *Basic Methods in Molecular Biology.* Elsevier; 2012. 320–323 p.

34. Dodé C, Krishnamoorthy R, Lamb J, Rochette J. Rapid analysis of α 3.7 thalassaemia and $\alpha\alpha$ anti 3.7 triplication by enzymatic amplification analysis. *Br J Haematol*. 1992 Jan;82(1):105–11.
35. Powars DR. Beta s-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia. Clinical and hematologic features. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1991 Jun;5(3):475–93.
36. Goossens M, Kan YYBTM in E. DNA analysis in the diagnosis of hemoglobin disorders. In: *Hemoglobins* [Internet]. Academic Press; 1981. p. 805–17. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0076687981761597>
37. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. 2014;1–21.
38. Gu Z, Eils R, Schlesner M. Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data. *Bioinformatics*. 2016;32(18):2847–9.
39. Borg J, Phylactides M, Bartsakoulia M, Tafrali C, Lederer C, Felice AE, et al. KLF10 gene expression is associated with high fetal hemoglobin levels and with response to hydroxyurea treatment in α -hemoglobinopathy patients. *Pharmacogenomics*. 2012;13(13):1487–500.
40. Creary S, Shrestha CL, Kotha K, Minta A, Fitch J, Jaramillo L, et al. Baseline and Disease-Induced Transcriptional Profiles in Children with Sickle Cell Disease. *Sci Rep*. 2020;10(1):1–11.
41. Perik-Zavodskii R, Perik-Zavodskaia O, Shevchenko J, Denisova V, Alrhoun S, Volynets M, et al. Immune Transcriptome Study of Human Nucleated Erythroid Cells from Different Tissues by Single-Cell RNA-Sequencing. *Cells*. 2022;11(22):1–20.
42. Mello F V., Land MGP, Costa ES, Teodósio C, Sanchez ML, Bárcena P, et al. Maturation-associated gene expression profiles during normal human bone marrow erythropoiesis. *Cell Death Discov* [Internet]. 2019;5(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41420-019-0151-0>
43. Ballas SK, Connes P. Rheological properties of sickle erythrocytes in patients with sickle-cell anemia: The effect of hydroxyurea, fetal hemoglobin, and α -thalassemia. *Eur J Haematol*. 2018;101(6):798–803.
44. Dasgupta T, Fabry ME, Kaul DK. Antisickling property of fetal hemoglobin enhances nitric oxide bioavailability and ameliorates organ oxidative stress in transgenic-knockout sickle mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010;298:394–402.
45. Zhang W, Lai R, He X, Liu X, Zhang Y, Yang Z, et al. Clinical prognostic implications of EPB41L4A expression in multiple myeloma. *J Cancer*. 2020;11(3):619–29.
46. Cheyette BNR, Waxman JS, Miller JR, Takemaru KI, Sheldahl LC, Khlebtsova N, et al. Dapper, a Dishevelled-associated antagonist of β -catenin and JNK signaling, is required for notochord formation. *Dev Cell*. 2002;2(4):449–61.

47. Bänziger C, Soldini D, Schütt C, Zipperlen P, Hausmann G, Basler K. Wntless, a Conserved Membrane Protein Dedicated to the Secretion of Wnt Proteins from Signaling Cells. *Cell*. 2006;125(3):509–22.
48. Siman-Tov R, Zelikson N, Caspi M, Levi Y, Perry C, Khair F, et al. Circulating Wnt Ligands Activate the Wnt Signaling Pathway in Mature Erythrocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021;41(5):E243–64.
49. Jin T, Zhang Z, Han Y, Li D, Liu J, Jiang M, et al. ANTXR1 Regulates Erythroid Cell Proliferation and Differentiation through wnt/ β -Catenin Signaling Pathway in Vitro and in Hematopoietic Stem Cell. *Dis Markers*. 2022;2022:1–15.
50. Jin T, Zhang Z, Han Y, Li D, Liu J, Jiang M, et al. Transmembrane Protein ANTXR1 Regulates γ -Globin Expression by Targeting the Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. *J Immunol Res*. 2022;2022:1–17.
51. Xie S, Xia L, Song Y, Liu H, Wang ZW, Zhu X. Insights Into the Biological Role of NEDD4L E3 Ubiquitin Ligase in Human Cancers. *Front Oncol*. 2021;11(November):1–10.
52. Thijs TC, Trinh VT, Vázquez O, Philipsen S. Targeted Protein Degradation as a Promising Tool for Epigenetic Upregulation of Fetal Hemoglobin. *ChemMedChem*. 2020;15(24):2436–43.
53. Xu J, Bauer DE, Kerényi MA, Vo TD, Hou S, Hsu YJ, et al. Corepressor-dependent silencing of fetal hemoglobin expression by BCL11A. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(16):6518–23.
54. Shi L, Cui S, Engel JD, Tanabe O. Lysine-specific demethylase 1 is a therapeutic target for fetal hemoglobin induction. *Nat Med*. 2013;19(3):291–4.
55. Ibanez V, Vaitkus K, Ruiz MA, Lei Z, Maienschein-Cline M, Arbieva Z, et al. Effect of the LSD1 inhibitor RN-1 on γ -globin and global gene expression during erythroid differentiation in baboons (*Papio anubis*). *PLoS One*. 2023;18(12 December).
56. Rivers A, Vaitkus K, Ibanez V, Ruiz MA, Jagadeeswaran R, Sauntharajah Y, et al. The LSD1 inhibitor RN-1 recapitulates the fetal pattern of hemoglobin synthesis in baboons (*P. anubis*). *Haematologica*. 2016;101(6):688–97.
57. Breton A, Theodorou A, Aktuna S, Sonzogni L, Darling D, Chan L, et al. ASH1L (a histone methyltransferase protein) is a novel candidate globin gene regulator revealed by genetic study of an English family with beta-thalassaemia unlinked to the beta-globin locus. *Br J Haematol*. 2016;175(3):525–30.

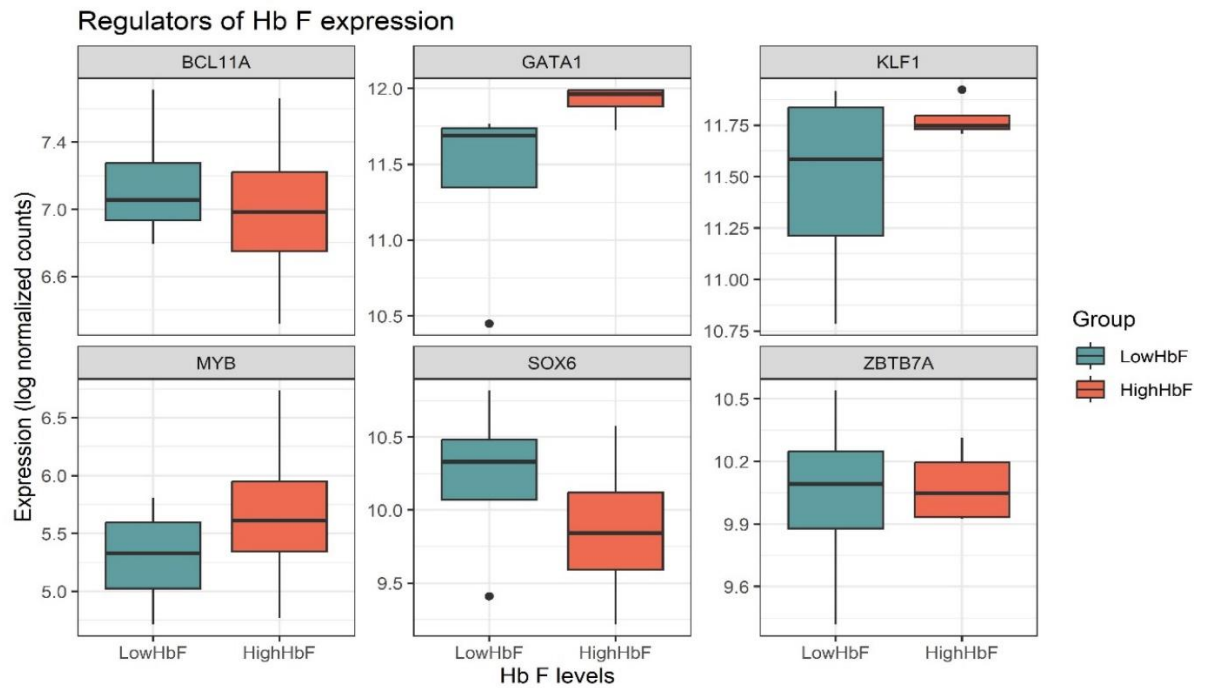


C High HbF vs Low HbF
EnhancedVolcano



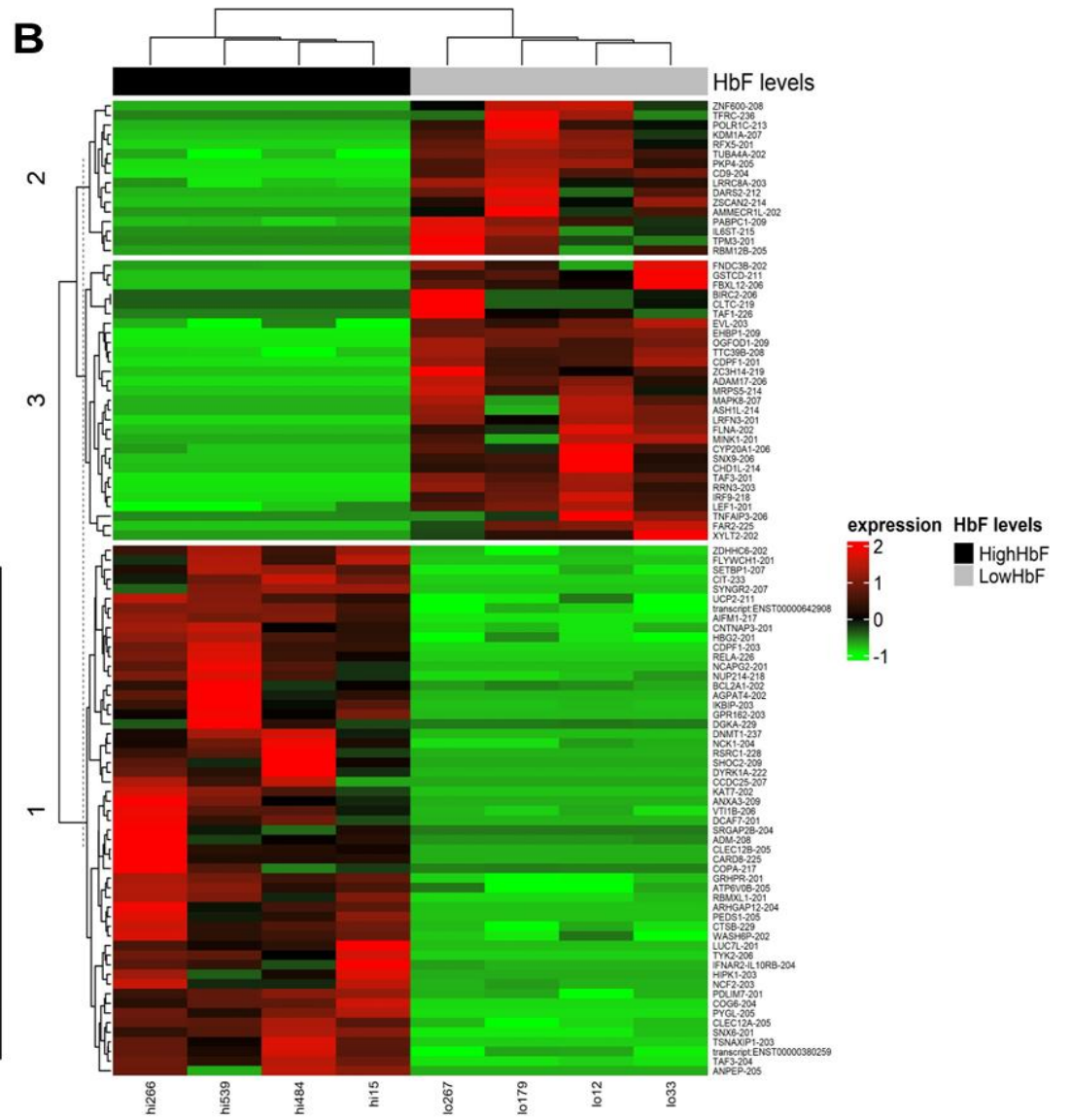
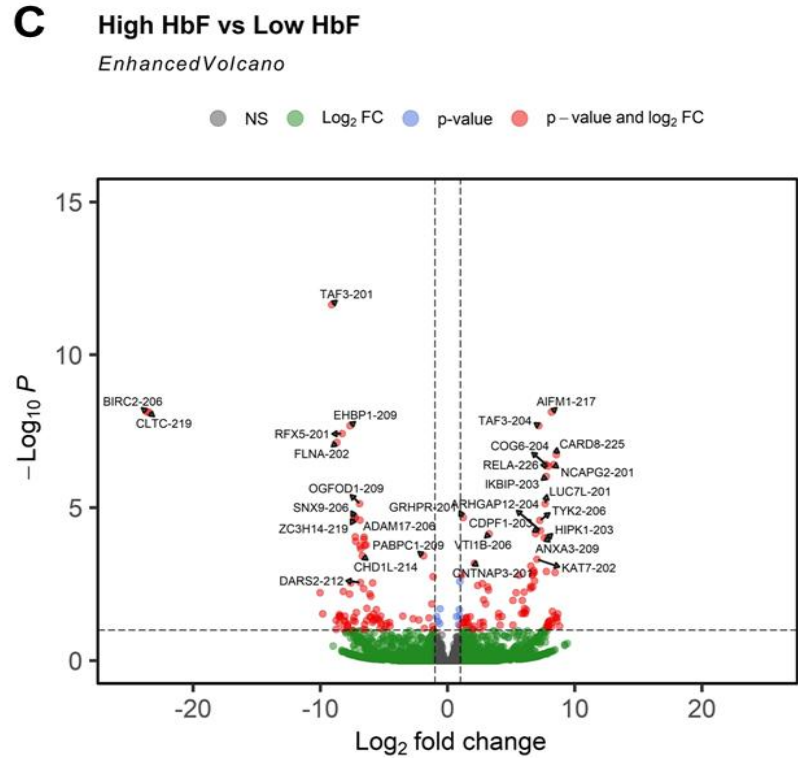
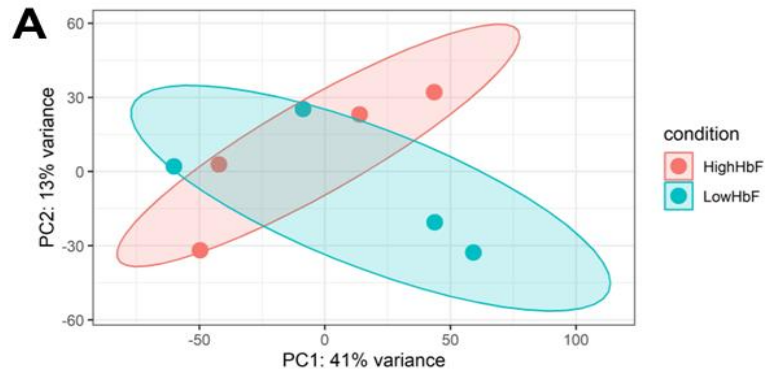
LEGENDA DA FIGURA

Figura 12: Análise de expressão gênica diferencial de pacientes com AF com altos e baixos níveis basais de Hb F. (A) Análise de componentes principais (PCA) da expressão gênica construída com transformação logarítmica regularizada (rlog). Nota: Grupo de alto Hb F (rosa) vs. grupo de baixo Hb F (azul). (B) Heatmap dos 100 genes mais expressos com base no valor de p ajustado ($> 0,10$). O vermelho denota genes com expressão aumentada, e o verde denota genes com expressão diminuída. (C) *Volcano plot* mostrando genes diferencialmente expressos, com valor de $p < 0,10$ e *fold change* < -1 ou > 1 . Pontos em cinza denotam genes com menos de 1,0 de *fold change* ou sem diferença significativa. Pontos em vermelho representam genes regulados positivamente ou negativamente que passaram nos critérios de *fold change* e valor de p.



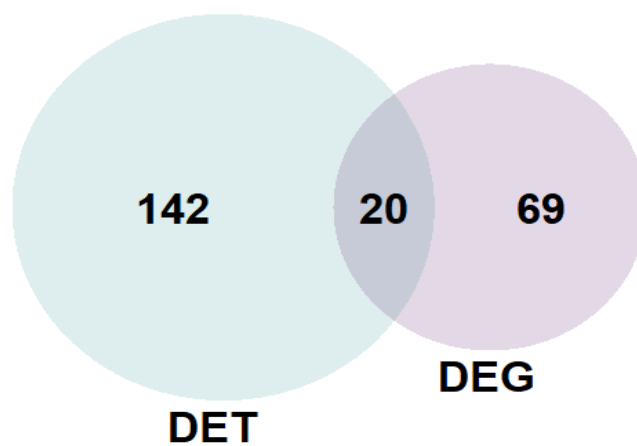
LEGENDA DA FIGURA

Figura 2: Expressão gênica, medida em contagens normalizadas logarítmicas, dos reguladores previamente conhecidos da globina gama (BCL11A, GATA-1, KLF1, cMYB, SOX6 e ZBTB7A).



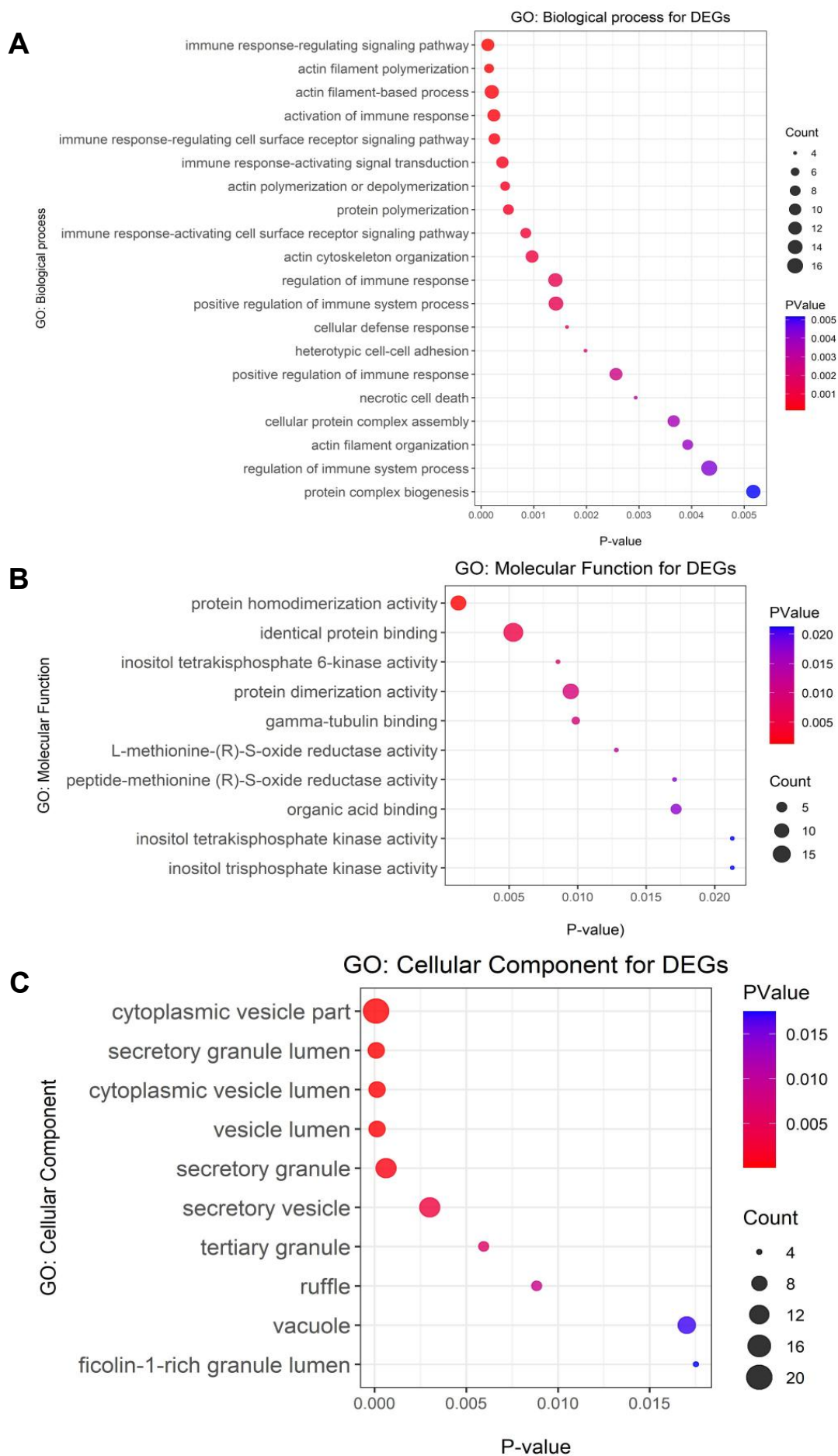
LEGENDA DA FIGURA

Figura 3: Análise de expressão diferencial de transcritos de pacientes com AF com altos e baixos níveis basais de Hb F. (A) Análise de componentes principais (PCA) da expressão de transcritos construída com transformação logarítmica regularizada (rlog). Nota: Grupo de alto Hb F (rosa) vs. grupo de baixo Hb F (azul). (B) *Heatmap* dos 100 transcritos mais expressos com base no valor de p ajustado ($> 0,10$). O vermelho denota transcritos com expressão aumentada, e o verde denota transcritos com expressão diminuída. (C) *Volcano plot* mostrando transcritos diferencialmente expressos, com valor de p $< 0,10$ e *fold change* < -1 ou > 1 . Pontos em cinza denotam transcritos com menos de 1,0 de *fold change* ou sem diferença significativa. Pontos em vermelho representam transcritos regulados positivamente ou negativamente que passaram nos critérios de *fold change* e valor de p.



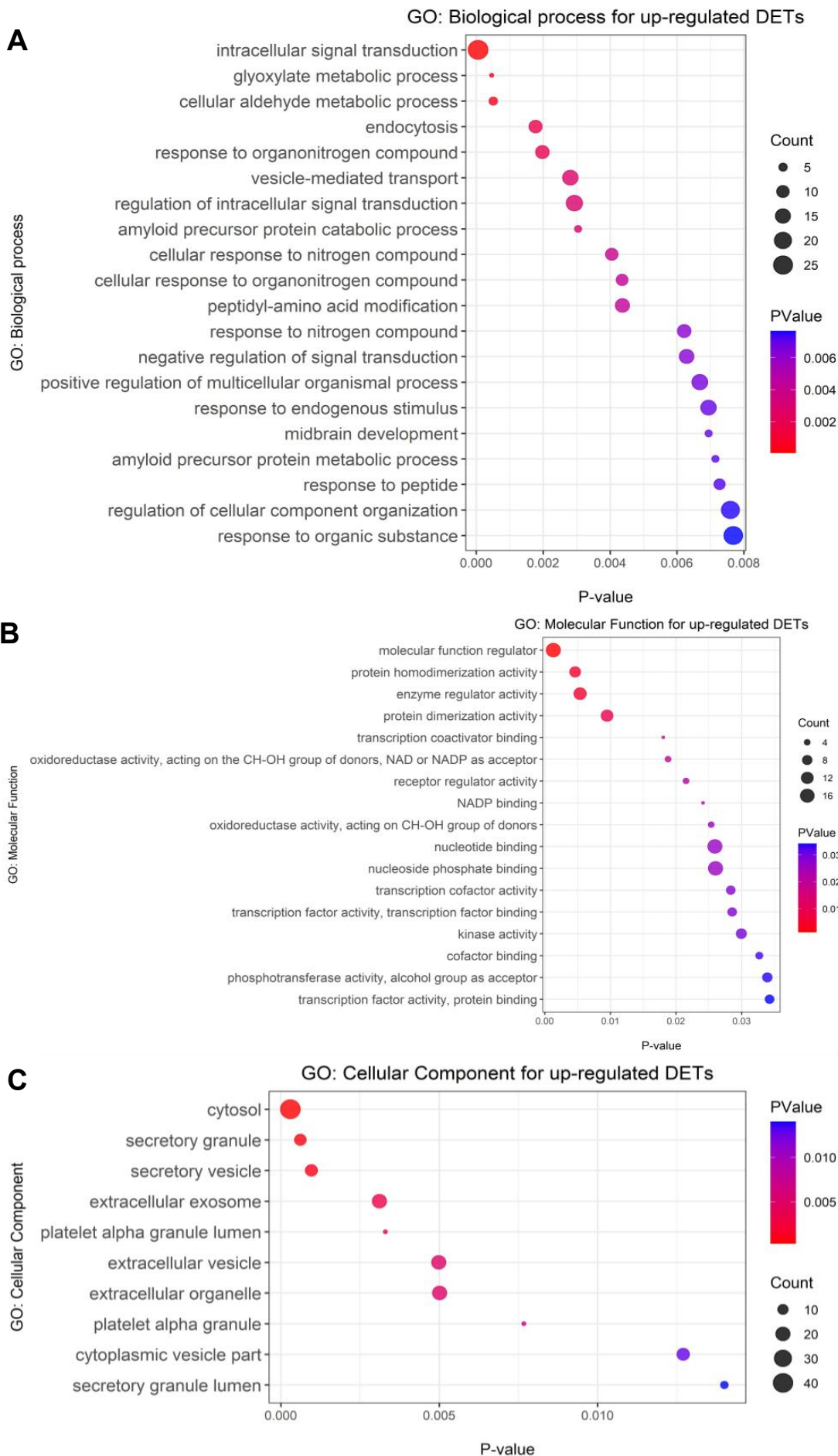
LEGENDA DA FIGURA

Figura 4: Diagrama de Venn ilustrando a contagem de genes diferencialmente expressos (DEGs) e genes únicos com transcritos diferencialmente expressos (DETs). A sobreposição indica o número de genes compartilhados entre ambos os grupos.



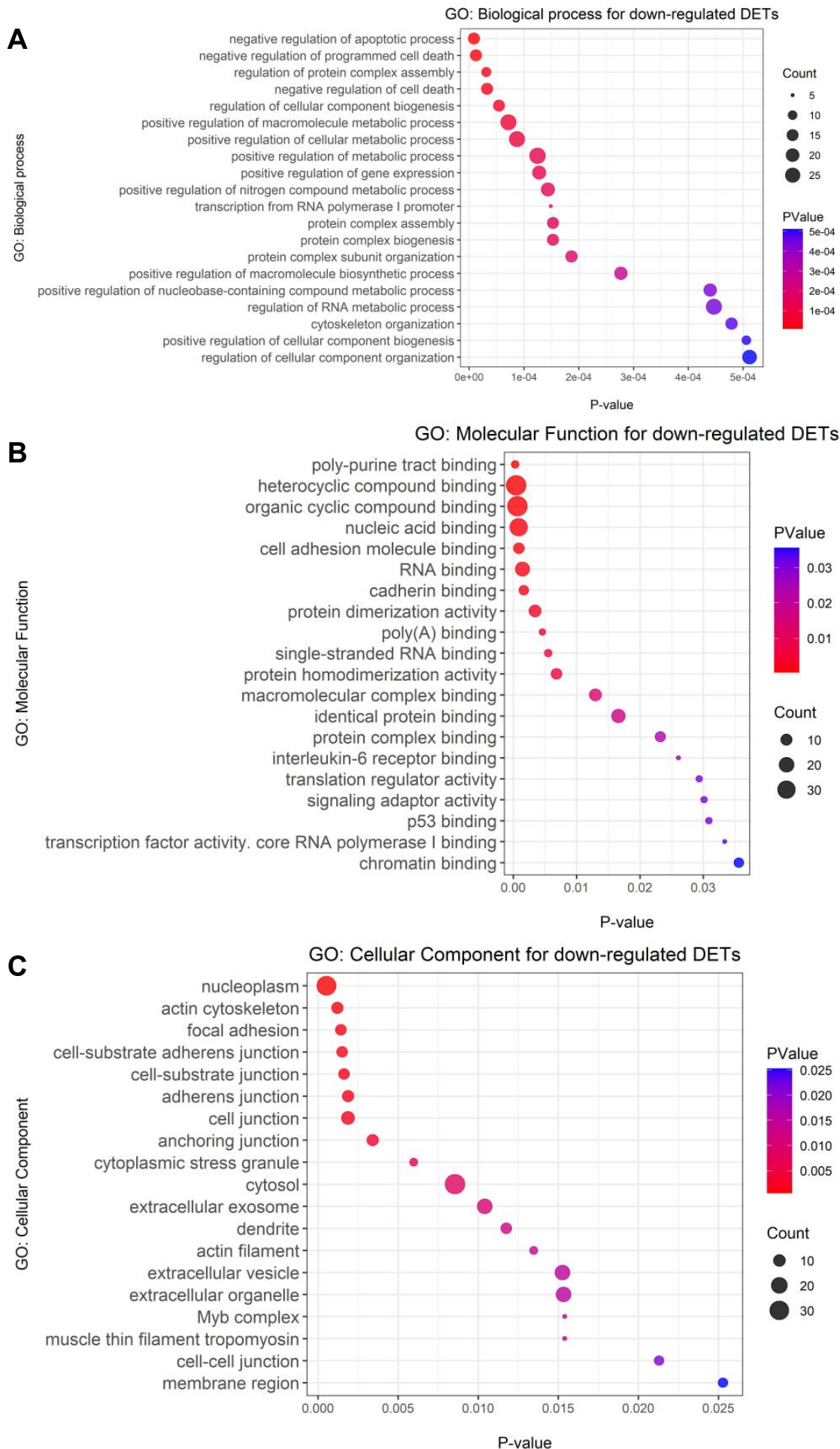
LEGENDA DA FIGURA

Figura 5: Representação dos termos do Gene Ontology (GO) enriquecidos entre todos os genes diferencialmente expressos. A, B e C representam os principais termos enriquecidos em processos biológicos, função molecular e componente celular, respectivamente. O tamanho do ponto representa o número de genes enriquecidos em cada termo GO.



LEGENDA DA FIGURA

Figura 6: Representação dos termos de Gene Ontology (GO) enriquecidos entre os transcritos regulados positivamente. A, B e C representam os principais termos enriquecidos em processos biológicos, função molecular e componente celular, respectivamente. O tamanho do ponto representa o número de genes enriquecidos em cada termo GO.



LEGENDA DA FIGURA

Figura 7: Representação dos termos de Gene Ontology (GO) enriquecidos entre os transcritos regulados negativamente. A, B e C representam os principais termos enriquecidos em processos biológicos, função molecular e componente celular, respectivamente. O tamanho do ponto representa o número de genes enriquecidos em cada termo GO.

Tabela 1: Características laboratoriais, moleculares e clínicas basais dos pacientes com AF incluídos no estudo.

Parâmetros	Hb F Alta				Hb F Baixa			
	H 1	H 2	H 3	H 4	L 1	L 2	L 3	L 4
Sexo	M	F	F	F	M	M	F	F
Idade (anos)	24	29	45	21	20	42	22	37
Hb F (%)	19,60	20,20	22,40	20,90	3,00	0,80	5,40	5,20
RBC (x 10⁶/μL)	2,63	3,19	2,76	3,82	3,30	4,10	2,52	2,23
Hb (g/dL)	9,1	10,1	9,0	10,8	9,0	9,30	8,60	7,20
WBC (mm³)	14240	4630	12230	5270	14810	6470	15140	13800
Reticulócitos (%)	15,98	5,71	11,18	5,0	8,99	2,60	14,30	12,96
Plaquetas (mm³)	309000	203000	403000	160000	385000	367000	454000	363000
TB (mg/dL)	4,33	2,8	2,03	1,76	5,37	2,64	4,31	5,69
IB (mg/dL)	3,59	2,51	1,83	1,52	4,71	1,75	3,8	4,74
LDH (U/L)	861	306	295	325	486	540	587	846
β^S haplótipos	CAR/CAR	CAR/CAR	CAR/BEN	CAR/CAR	CAR/CAR	CAR/CAR	CAR/CAR	CAR/CAR
α-talassemia (α⁻ 3.7kb)	αα/αα	αα/αα	αα/αα	αα/-α	αα/αα	αα/αα	αα/αα	αα/αα
CVOs por ano	< 3	< 3	< 3	< 3	3 – 5	3 – 5	< 3	3 – 5
Complicações clínicas	Osteonecrose	None	None	None	Priapism	Osteonecrose Úlcera de perna Priapismo	None	STA

RBC, Hemácias; Hb, hemoglobina; Hb F, hemoglobina fetal; WBC, leucócitos; TB, bilirrubina total; IB, bilirrubina indireta; LDH, lactato desidrogenase; CAR, República Central Africana; BEN, Benin; CVO, crise vaso-oclusiva; STA, Síndrome torácica aguda.

Tabela 2: Top 10 genes regulados positivamente e negativamente entre grupos de alta e baixa Hb F.

Genes regulados positivamente				
Símbolo	Chr	Nome	log2FoldChange	Padj
CLEC12A	12	C-type lectin domain family 12 member A	3.04	1,60E-10
ENSG00000284931	11	Globin Family Profile Domain-Containing Protein (Protein Coding gene)	3.26	1,92E-05
HBG2	11	hemoglobin subunit gamma 2	3.20	1,92E-05
ENSG00000239920	11	Uncharacterized protein (A0A2U3TZJ3) (Globin Family related)	2.89	7,05E-05
GRHPR	9	glyoxylate and hydroxypyruvate reductase	1.28	7,05E-05
PYGL	14	glycogen phosphorylase L	1.29	0,0002
UCP2	11	uncoupling protein 2	1.02	0,0012
BASP1	5	brain abundant membrane attached signal protein 1	1.76	0,0034
CYP27A1	2	cytochrome P450 family 27 subfamily A member 1	2.11	0,0057
WLS	1	Wnt ligand secretion mediator	2.01	0,0057
Genes regulados negativamente				
TRAT1	3	T cell receptor associated transmembrane adaptor 1	-1.41	0,0034
CMKLR1	12	chemerin chemokine-like receptor 1	-1.34	0,0077
LRRC8A	9	leucine rich repeat containing 8 VRAC subunit A	-1.20	0,0077
TTC39B	9	tetratricopeptide repeat domain 39B	-1.00	0,0249
EPB41L4A	5	erythrocyte membrane protein band 4.1 like 4A	-1.94	0,0340
CISH	3	cytokine inducible SH2 containing protein	-1.08	0,0352
DACT1	14	dishevelled binding antagonist of beta catenin 1	-1.84	0,0368
A4GALT	22	alpha 1,4-galactosyltransferase (P blood group)	-2.98	0,0558
CD163	12	CD163 molecule	-1.69	0,0558
RPSA2	19	ribosomal protein SA 2	-2.35	0,0565

Tabela 3: Top 10 transcritos regulados positivamente e negativamente entre grupos de alta e baixa Hb F.

Transcritos regulados positivamente					
Transcrito	Chr	Gene	Nome	log2FoldChange	Padj
AIFM1-217	X	AIFM1	apoptosis inducing factor mitochondria associated 1	8,16	7,43E-09
TAF3-204	10	TAF3	TATA-box binding protein associated factor 3	7,17	2,07E-08
CARD8-225	19	CARD8	caspase recruitment domain family member 8	8,54	1,82E-07
COG6-204	13	COG6	component of oligomeric golgi complex 6	7,73	3,79E-07
NCAPG2-201	7	NCAPG2	non-SMC condensin II complex subunit G2	8,36	3,90E-07
RELA-226	11	RELA	RELA proto-oncogene, NF-kB subunit	7,95	4,38E-07
IKBIP-203	12	IKBIP	IKBKB interacting protein	7,77	9,39E-07
LUC7L-201	16	LUC7L	LUC7 like	7,67	7,35E-06
GRHPR-201	9	GRHPR	glyoxylate and hydroxypyruvate reductase	1,23	2,09E-05
TYK2-206	19	TYK2	tyrosine kinase 2	7,25	2,58E-05
Transcritos regulados positivamente					
TAF3-201	10	TAF3	TATA-box binding protein associated factor 3	-9,12	2,28E-12
BIRC2-206	11	BIRC2	baculoviral IAP repeat containing 2	-23,64	7,43E-09
CLTC-219	17	CLTC	clathrin heavy chain	-23,50	7,43E-09
EHBP1-209	2	EHBP1	EH domain binding protein 1	-7,67	2,07E-08
RFX5-201	1	RFX5	regulatory factor X5	-8,29	3,78E-08
FLNA-202	12	FLNA	filamin A	-8,70	7,28E-08
OGFOD1-209	16	OGFOD1	2-oxoglutarate and iron dependent oxygenase domain containing 1	-6,91	7,35E-06
SNX9-206	6	SNX9	sorting nexin 9	-7,26	2,09E-05
ZC3H14-219	14	ZC3H14	zinc finger CCCH-type containing 14	-7,31	2,16E-05
ADAM17-206	2	ADAM17	ADAM metallopeptidase domain 17	-6,89	2,54E-05

MATERIAL SUPLEMENTAR

LEGENDA DA FIGURA

Figura suplementar 1: Gráfico Gene-Concept Network dos genes diferencialmente expressos envolvidos em vias imunes significativamente enriquecidas no Gene Ontology (GO). As cores variadas representam diferentes itens GO, e a cor de cada item GO está anotada ao lado do gráfico. As linhas conectam cada gene ao termo GO ao qual eles estão enriquecidos. Genes com um ponto azul têm um *log2 fold change* > 1, e genes com um ponto vermelho têm um *log2 fold change* > -1.

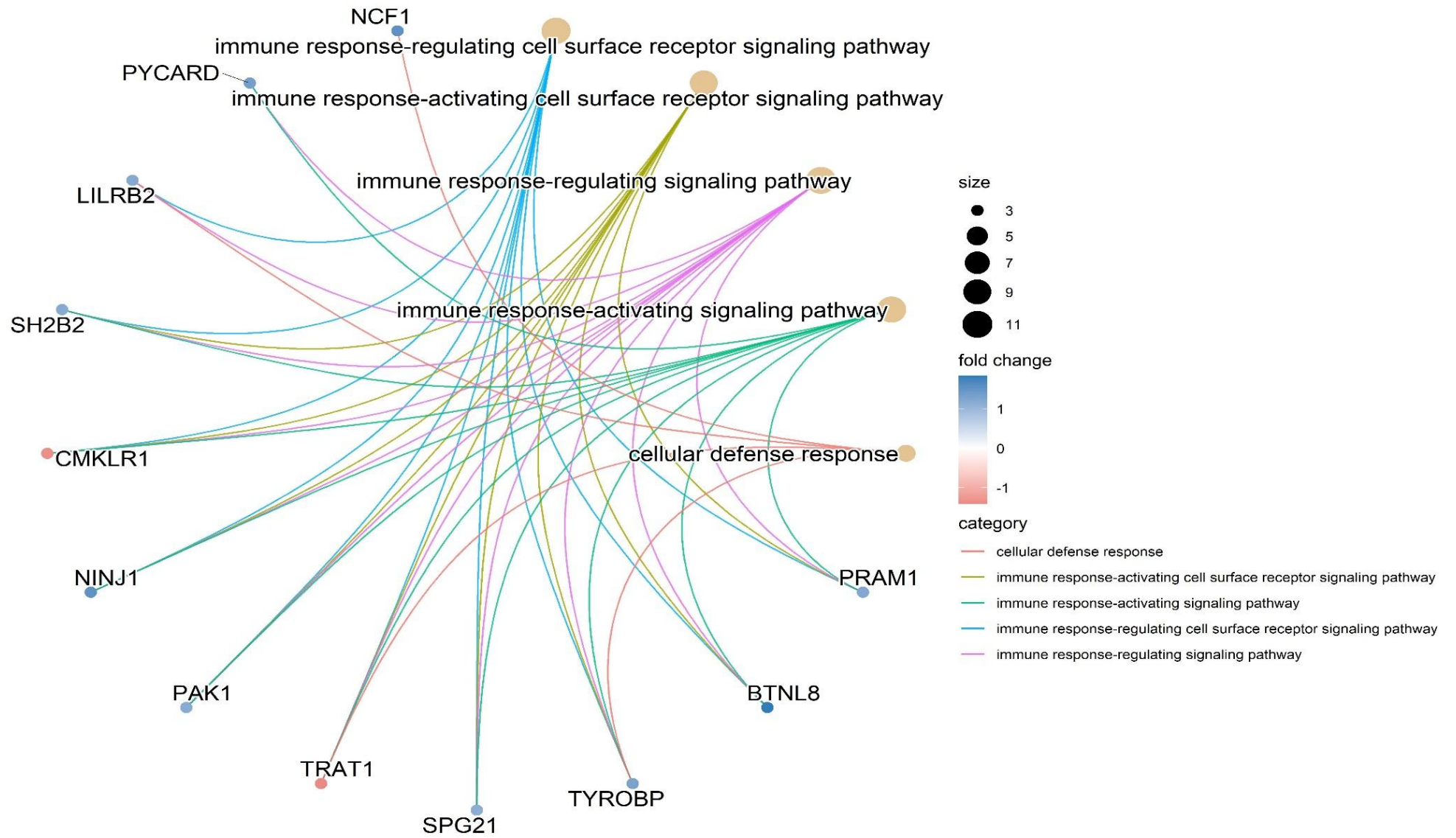


Tabela suplementar 1: Genes regulados positivamente classificados por Log2FoldChange nos grupos de alta Hb F vs baixa Hb F.

Genes regulados positivamente			
Símbolo	Nome do gene	Log2 FoldChange	Padj
ENSG00000284931	NA	3.26	1,92E-05
HBG2	hemoglobin subunit gamma 2	3.20	1,92E-05
S100P	S100 calcium binding protein P	3.17	0,0995
CLEC12A	C-type lectin domain family 12 member A	3.04	1,60E-10
ENSG00000239920	NA	2.89	7,05E-05
CYP27A1	cytochrome P450 family 27 subfamily A member 1	2.11	0,0057
PEAK3	PEAK family member 3	2.06	0,0071
IFNAR2-IL10RB	IFNAR2-IL10RB readthrough	2.05	0,0572
GPAA1	glycosylphosphatidylinositol anchor attachment 1	2.05	0,0404
MME	membrane metalloendopeptidase	2.03	0,0140
WLS	Wnt ligand secretion mediator	2.01	0,0057
DSC2	desmocollin 2	1.99	0,0768
BTNL8	butyrophilin like 8	1.83	0,0980
DAPK2	death associated protein kinase 2	1.78	0,0084
BASP1	brain abundant membrane attached signal protein 1	1.76	0,0034
CDA	cytidine deaminase	1.74	0,0295
HAL	histidine ammonia-lyase	1.63	0,0352
PANX2	pannexin 2	1.62	0,0917
CMTM2	CKLF like MARVEL transmembrane domain containing 2	1.58	0,0501
LST1	leukocyte specific transcript 1	1.55	0,0249
ZNF467	zinc finger protein 467	1.55	0,0175
NCF1	neutrophil cytosolic factor 1	1.52	0,0404
GPAT3	glycerol-3-phosphate acyltransferase 3	1.51	0,0344
PADI4	peptidyl arginine deiminase 4	1.51	0,0341
NINJ1	ninjurin 1	1.51	0,0831
TMCC3	transmembrane and coiled-coil domain family 3	1.51	0,0340
CRISPLD2	cysteine rich secretory protein LCCL domain containing 2	1.48	0,0302
MSRB2	methionine sulfoxide reductase B2	1.47	0,0831
RGS6	regulator of G protein signaling 6	1.47	0,0077
MTHFS	methenyltetrahydrofolate synthetase	1.47	0,0332
MSRB1	methionine sulfoxide reductase B1	1.45	0,0468
BSCL2	BSCL2 lipid droplet biogenesis associated, seipin	1.45	0,0772
IKBIP	IKBKB interacting protein	1.45	0,0885
CYP4F3	cytochrome P450 family 4 subfamily F member 3	1.44	0,0609
CENPS-CORT	CENPS-CORT readthrough	1.43	0,0885
CPPED1	calcineurin like phosphoesterase domain containing 1	1.41	0,0443
RGS2	regulator of G protein signaling 2	1.41	0,0885
MYADM	myeloid associated differentiation marker	1.41	0,0945

OSGIN2	oxidative stress induced growth inhibitor family member 2	1.36	0,0084
MANSC1	MANSC domain containing 1	1.35	0,0887
PYCARD	PYD and CARD domain containing	1.34	0,0575
CFP	complement factor properdin	1.34	0,0195
FRAT2	FRAT regulator of WNT signaling pathway 2	1.33	0,0195
LRRC4	leucine rich repeat containing 4	1.33	0,0772
ALPL	alkaline phosphatase, biomineralization associated	1.33	0,0759
GPR141	G protein-coupled receptor 141	1.32	0,0806
AIF1	allograft inflammatory factor 1	1.31	0,0249
PYGL	glycogen phosphorylase L	1.29	0,0002
RGL4	ral guanine nucleotide dissociation stimulator like 4	1.29	0,0982
GRHPR	glyoxylate and hydroxypyruvate reductase	1.28	7,05E-05
TYROBP	transmembrane immune signaling adaptor TYROBP	1.26	0,0884
QPCT	glutaminy-peptide cyclotransferase	1.25	0,0445
GLT1D1	glycosyltransferase 1 domain containing 1	1.24	0,0772
PIP4P2	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 4-phosphatase 2	1.23	0,0175
PILRA	paired immunoglobulin like type 2 receptor alpha	1.21	0,0233
PRAM1	PML-RARA regulated adaptor molecule 1	1.21	0,0340
TSEN34	tRNA splicing endonuclease subunit 34	1.20	0,0614
S100A11	S100 calcium binding protein A11	1.19	0,0727
LILRB2	leukocyte immunoglobulin like receptor B2	1.17	0,0981
SH2B2	SH2B adaptor protein 2	1.16	0,0917
IPMK	inositol polyphosphate multikinase	1.16	0,0995
JAML	junction adhesion molecule like	1.15	0,0572
PAK1	p21 (RAC1) activated kinase 1	1.14	0,0572
MTX1	metaxin 1	1.13	0,0884
G6PD	glucose-6-phosphate dehydrogenase	1.13	0,0066
TMEM91	transmembrane protein 91	1.12	0,0289
SPG21	SPG21 abhydrolase domain containing, maspardin	1.11	0,0077
ERGIC1	endoplasmic reticulum-golgi intermediate compartment 1	1.10	0,0314
ITPK1	inositol-tetrakisphosphate 1-kinase	1.10	0,0917
WASH6P_2	WASP family homolog 6, pseudogene 2	1.08	0,0216
NDUFAF3	NADH:ubiquinone oxidoreductase complex assembly factor 3	1.07	0,0911
VMP1	vacuole membrane protein 1	1.06	0,0727
ING2	inhibitor of growth family member 2	1.04	0,0609
WASH6P_1	WASP family homolog 6, pseudogene 2	1.03	0,0154
ATP6V0B	ATPase H ⁺ transporting V0 subunit b	1.03	0,0175
WASHC1	WASH complex subunit 1	1.02	0,0071
UCP2	uncoupling protein 2	1.02	0,0012

Tabela suplementar 2: Genes regulados negativamente classificados por Log2FoldChange nos grupos de alta Hb F vs baixa Hb F.

Genes regulados negativamente			
Símbolo	Nome do gene	Log2FoldChange	Padj
A4GALT	alpha 1,4-galactosyltransferase (P blood group)	-2.98	0,0558
RPSA2	ribosomal protein SA 2	-2.35	0,0565
EPB41L4A	erythrocyte membrane protein band 4.1 like 4A	-1.94	0,0340
DACT1	dishevelled binding antagonist of beta catenin 1	-1.84	0,0368
CD163	CD163 molecule	-1.69	0,0558
TRAT1	T cell receptor associated transmembrane adaptor 1	-1.41	0,0034
GZMH	granzyme H	-1.38	0,0995
CMKLR1	chemerin chemokine-like receptor 1	-1.34	0,0077
LRRC8A	leucine rich repeat containing 8 VRAC subunit A	-1.20	0,0077
TIMM10B	translocase of inner mitochondrial membrane 10B	-1.09	0,0572
CISH	cytokine inducible SH2 containing protein	-1.08	0,0352
TTC39B	tetratricopeptide repeat domain 39B	-1.00	0,0249

Tabela suplementar 3: Transcritos regulados positivamente classificados por Log2FoldChange nos grupos de alta Hb F vs baixa Hb F.

Transcrito	Nome do gene	Log2FoldChange	Padj
NEDD4L-225	NEDD4 like E3 ubiquitin protein ligase(NEDD4L)	8,81	0,0747
CCDC25-207	coiled-coil domain containing 25(CCDC25)	8,66	0,0295
SLC16A3-205	solute carrier family 16 member 3(SLC16A3)	8,62	0,0508
SNX10-218	sorting nexin 10(SNX10)	8,60	0,0388
CARD8-225	caspase recruitment domain family member 8(CARD8)	8,54	1,82E-07
ACTN1-236	actinin alpha 1(ACTN1)	8,50	0,0407
SRGAP2B-204	SLIT-ROBO Rho GTPase activating protein 2B(SRGAP2B)	8,45	0,0013
ANPEP-205	alanyl aminopeptidase, membrane(ANPEP)	8,39	0,0341
NCAPG2-201	non-SMC condensin II complex subunit G2(NCAPG2)	8,36	3,90E-07
COPA-217	COPI coat complex subunit alpha(COPA)	8,24	0,0246
SPG11-223	SPG11 vesicle trafficking associated, spatacsin(SPG11)	8,22	0,0583
ZNF148-204	zinc finger protein 148(ZNF148)	8,18	0,0776
AIFM1-217	apoptosis inducing factor mitochondria associated 1(AIFM1)	8,16	7,43E-09
MRPS25-221	mitochondrial ribosomal protein S25(MRPS25)	8,09	0,0483
CHCHD7-203	coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 7(CHCHD7)	7,97	0,0516
RELA-226	RELA proto-oncogene, NF-kB subunit(RELA)	7,95	4,38E-07
MAPK13-203	mitogen-activated protein kinase 13(MAPK13)	7,94	0,0747
SMARCD2-220	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily d, member 2(SMARCD2)	7,93	0,0776
SRSF2-201	serine and arginine rich splicing factor 2(SRSF2)	7,92	0,0549
HIPK1-203	homeodomain interacting protein kinase 1(HIPK1)	7,90	9,50E-05
APP-201	amyloid beta precursor protein(APP)	7,89	0,0776
CSNK1E-201	casein kinase 1 epsilon(CSNK1E)	7,84	0,0651
IKBIP-203	IKBKB interacting protein(IKBIP)	7,77	9,39E-07
DGKA-229	diacylglycerol kinase alpha(DGKA)	7,77	0,0012
IDH1-205	isocitrate dehydrogenase (NADP(+)) 1(IDH1)	7,77	0,0776
SNX10-207	sorting nexin 10(SNX10)	7,74	0,0945
COG6-204	component of oligomeric golgi complex 6(COG6)	7,73	3,79E-07
LUC7L-201	LUC7 like(LUC7L)	7,67	7,35E-06
ANXA3-209	annexin A3(ANXA3)	7,60	9,47E-05
ARHGAP12-204	Rho GTPase activating protein 12(ARHGAP12)	7,30	5,61E-05
TYK2-206	tyrosine kinase 2(TYK2)	7,25	2,58E-05
TAF3-204	TATA-box binding protein associated factor 3(TAF3)	7,17	2,07E-08

KAT7-202	lysine acetyltransferase 7(KAT7)	7,03	0,0005
CDPF1-203	cysteine rich DPF motif domain containing 1(CDPF1)	6,92	7,02E-05
SHOC2-209	SHOC2 leucine rich repeat scaffold protein(SHOC2)	6,84	0,0025
DNMT1-237	DNA methyltransferase 1(DNMT1)	6,80	0,0013
FLYWCH1-201	FLYWCH-type zinc finger 1(FLYWCH1)	6,77	0,0011
GPR162-203	G protein-coupled receptor 162(GPR162)	6,74	0,0014
DCAF7-201	DDB1 and CUL4 associated factor 7(DCAF7)	6,70	0,0039
PEDS1-205	plasmalyne ethanolamine desaturase 1(PEDS1)	6,65	0,0016
TSNAXIP1-203	translin associated factor X interacting protein 1(TSNAXIP1)	6,55	0,0008
DYRK1A-222	dual specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 1A(DYRK1A)	6,54	0,0043
CLEC12B-205	C-type lectin domain family 12 member B(CLEC12B)	6,53	0,0038
RSRC1-228	arginine and serine rich coiled-coil 1(RSRC1)	6,19	0,0222
SYNGR2-207	synaptogyrin 2(SYNGR2)	6,11	0,0286
NCF2-203	neutrophil cytosolic factor 2(NCF2)	6,05	0,0196
AGPAT4-202	1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 4(AGPAT4)	6,05	0,0255
IFNAR2-IL10RB-204	interferon alpha and beta receptor subunit 2(IFNAR2)	6,02	0,0057
ADM-208	adrenomedullin(ADM)	5,98	0,0286
PYGL-205	glycogen phosphorylase L(PYGL)	5,87	0,0107
CIT-233	citron rho-interacting serine/threonine kinase(CIT)	5,82	0,0286
RBMXL1-201	RBMX like 1(RBMXL1)	5,62	0,0016
SETBP1-207	SET binding protein 1(SETBP1)	5,39	0,0060
HYI-202	hydroxypyruvate isomerase (putative)(HYI)	5,14	0,0688
SNX6-201	sorting nexin 6(SNX6)	5,14	0,0107
NUP214-218	nucleoporin 214(NUP214)	4,28	0,0363
LCORL-201	ligand dependent nuclear receptor corepressor like(LCORL)	4,12	0,0689
NCK1-204	NCK adaptor protein 1(NCK1)	4,02	0,0286
GNAS-222	GNAS complex locus(GNAS)	3,99	0,0378
VTI1B-206	vesicle transport through interaction with t-SNAREs 1B(VTI1B)	3,27	7,09E-05
ENST00000642908	Globin Family Profile Domain-Containing Protein (ENSG00000284931)	3,22	0,0049
HBG2-201	hemoglobin subunit gamma 2(HBG2)	3,14	0,0039
BCL2A1-202	BCL2 related protein A1(BCL2A1)	2,99	0,0139
ENST00000380259	A0A2U3TZJ3_HUMAN	2,83	0,0103
WDR1-203	WD repeat domain 1(WDR1)	2,81	0,0744
RELL2-202	RELT like 2(RELL2)	2,80	0,0543
CTSB-229	cathepsin B(CTSB)	2,73	0,0030
RAC1-208	Rac family small GTPase 1(RAC1)	2,58	0,0561
DOK1-202	docking protein 1(DOK1)	2,57	0,0945
CLEC12A-205	C-type lectin domain family 12 member A(CLEC12A)	2,37	0,0035

CNTNAP3-201	contactin associated protein family member 3(CNTNAP3)	2,11	0,0007
CYP27A1-201	cytochrome P450 family 27 subfamily A member 1(CYP27A1)	2,09	0,0749
PEAK3-201	PEAK family member 3(PEAK3)	1,98	0,0921
CYBRD1-202	cytochrome b reductase 1(CYBRD1)	1,93	0,0988
LST1-217	leukocyte specific transcript 1(LST1)	1,78	0,0366
BASP1-201	brain abundant membrane attached signal protein 1(BASP1)	1,66	0,0651
MTHFS-202	methenyltetrahydrofolate synthetase(MTHFS)	1,58	0,0563
SKIC2-223	SKI2 subunit of superkiller complex(SKIC2)	1,55	0,0749
ICAM3-202	intercellular adhesion molecule 3(ICAM3)	1,52	0,0383
RGS6-209	regulator of G protein signaling 6(RGS6)	1,44	0,0401
ATG2A-202	autophagy related 2A(ATG2A)	1,43	0,0447
G6PD-203	glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD)	1,32	0,0553
WDR59-202	WD repeat domain 59(WDR59)	1,29	0,0590
GRHPR-201	glyoxylate and hydroxypyruvate reductase(GRHPR)	1,23	2,09E-05
CYRIB-229	CYFIP related Rac1 interactor B(CYRIB)	1,17	0,0553
ZDHHC6-202	zinc finger DHHC-type palmitoyltransferase 6(ZDHHC6)	1,10	0,0016
WASH6P-217	WASP family homolog 6, pseudogene (WASH6P)	1,00	0,0740

Tabela suplementar 4: Transcritos regulados negativamente classificados por Log2FoldChange nos grupos de alta Hb F vs baixa Hb F.

Transcrito	Nome do gene	log2FoldChange	Padj
BIRC2-206	baculoviral IAP repeat containing 2(BIRC2)	-23,64	7,43E-09
CLTC-219	clathrin heavy chain(CLTC)	-23,50	7,43E-09
IL6ST-215	interleukin 6 cytokine family signal transducer(IL6ST)	-10,02	0,0060
TFRC-236	transferrin receptor(TFRC)	-9,81	0,0295
TAF3-201	TATA-box binding protein associated factor 3(TAF3)	-9,12	2,28E-12
HNRNPK-223	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K(HNRNPK)	-8,76	0,0945
FOSB-203	FosB proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit(FOSB)	-8,76	0,0483
FLNA-202	filamin A(FLNA)	-8,70	7,28E-08
RPS6KB1-202	ribosomal protein S6 kinase B1(RPS6KB1)	-8,55	0,0366
HNRNPK-216	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K(HNRNPK)	-8,51	0,0589
ASH1L-214	ASH1 like histone lysine methyltransferase(ASH1L)	-8,51	0,0308
MINK1-201	misshapen like kinase 1(MINK1)	-8,45	0,0352
RBM12B-205	RNA binding motif protein 12B(RBM12B)	-8,44	0,0352
RFX5-201	regulatory factor X5(RFX5)	-8,29	3,78E-08
TPM3-201	tropomyosin 3(TPM3)	-8,20	0,0055
TPM4-201	tropomyosin 4(TPM4)	-8,16	0,0936
SFMBT2-204	Scm like with four mbt domains 2(SFMBT2)	-8,09	0,0487
SLC7A6-209	solute carrier family 7 member 6(SLC7A6)	-8,08	0,0530
TNFAIP3-206	TNF alpha induced protein 3(TNFAIP3)	-8,07	0,0352
FMR1-221	fragile X messenger ribonucleoprotein 1(FMR1)	-7,88	0,0738
ZFX-201	zinc finger protein X-linked(ZFX)	-7,87	0,0719
PATJ-215	PATJ crumbs cell polarity complex component(PATJ)	-7,83	0,0644
TAF1-226	TATA-box binding protein associated factor 1(TAF1)	-7,71	0,0066
EHBP1-209	EH domain binding protein 1(EHBP1)	-7,67	2,07E-08
MAPK8-207	mitogen-activated protein kinase 8(MAPK8)	-7,61	0,0029
FAM222B-211	family with sequence similarity 222 member B(FAM222B)	-7,44	0,0990
ATP2C1-202	ATPase secretory pathway Ca ²⁺ transporting 1(ATP2C1)	-7,41	0,0483
PDK2-201	pyruvate dehydrogenase kinase 2(PDK2)	-7,37	0,0385
ZC3H14-219	zinc finger CCCH-type containing 14(ZC3H14)	-7,31	2,16E-05
IL6ST-211	interleukin 6 cytokine family signal transducer(IL6ST)	-7,27	0,0530
SNX9-206	sorting nexin 9(SNX9)	-7,26	2,09E-05
KDM1A-207	lysine demethylase 1A(KDM1A)	-7,26	8,92E-05
FAR2-225	fatty acyl-CoA reductase 2(FAR2)	-7,22	0,0001
FNDC3B-202	fibronectin type III domain containing 3B(FNDC3B)	-7,18	0,0266
OGFOD1-209	2-oxoglutarate and iron dependent oxygenase domain containing 1(OGFOD1)	-6,91	7,35E-06
MRPS5-214	mitochondrial ribosomal protein S5(MRPS5)	-6,89	0,0002

ADAM17-206	ADAM metallopeptidase domain 17(ADAM17)	-6,89	2,54E-05
DARS2-212	aspartyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial(DARS2)	-6,85	0,0028
FBXL12-206	F-box and leucine rich repeat protein 12(FBXL12)	-6,84	0,0002
CHD1L-214	chromodomain helicase DNA binding protein 1 like(CHD1L)	-6,71	0,0004
ZNF180-206	zinc finger protein 180(ZNF180)	-6,60	0,0945
ZNF600-208	zinc finger protein 600(ZNF600)	-6,60	0,0044
PKP4-205	plakophilin 4(PKP4)	-6,58	0,0001
CDPF1-201	cysteine rich DPF motif domain containing 1(CDPF1)	-6,57	9,13E-05
KRIT1-261	KRIT1 ankyrin repeat containing(KRIT1)	-6,52	0,0657
IRF9-218	interferon regulatory factor 9(IRF9)	-6,51	0,0002
CAST-228	calpastatin(CAST)	-6,47	0,0990
CD9-204	CD9 molecule(CD9)	-6,41	0,0002
GCNT2-203	glucosaminyl (N-acetyl) transferase 2 (I blood group)(GCNT2)	-6,35	0,0479
XYLT2-202	xylosyltransferase 2(XYLT2)	-6,34	0,0196
ZSCAN2-214	zinc finger and SCAN domain containing 2(ZSCAN2)	-6,13	0,0066
AMMECR1L-202	AMMECR1 like(AMMECR1L)	-6,12	0,0366
GSTCD-211	glutathione S-transferase C-terminal domain containing(GSTCD)	-6,04	0,0079
NME2-202	NME/NM23 nucleoside diphosphate kinase 2(NME2)	-6,03	0,0376
RRN3-203	RRN3 homolog, RNA polymerase I transcription factor(RRN3)	-5,90	0,0029
CXCR3-201	C-X-C motif chemokine receptor 3(CXCR3)	-5,88	0,0563
POLR1C-213	RNA polymerase I and III subunit C(POLR1C)	-5,82	0,0295
NDUFAF8-205	NADH:ubiquinone oxidoreductase complex assembly factor 8(NDUFAF8)	-5,81	0,0479
RACK1-209	receptor for activated C kinase 1(RACK1)	-5,74	0,0447
HYCC1-205	hyccin PI4KA lipid kinase complex subunit 1(HYCC1)	-5,60	0,0383
LRFN3-201	leucine rich repeat and fibronectin type III domain containing 3(LRFN3)	-5,59	0,0213
WDR20-203	WD repeat domain 20(WDR20)	-5,43	0,0439
WASHC4-208	WASH complex subunit 4(WASHC4)	-5,32	0,0879
ENOPH1-202	enolase-phosphatase 1(ENOPH1)	-5,32	0,0516
CYP20A1-206	cytochrome P450 family 20 subfamily A member 1(CYP20A1)	-5,26	0,0352
TMEM129-203	transmembrane protein 129, E3 ubiquitin ligase(TMEM129)	-5,24	0,0622
ADD1-221	adducin 1(ADD1)	-4,99	0,0979
RIMKLB-213	ribosomal modification protein rimK like family member B(RIMKLB)	-4,83	0,0732
KRIT1-205	KRIT1 ankyrin repeat containing(KRIT1)	-4,79	0,0605
AUTS2-218	activator of transcription and developmental regulator AUTS2(AUTS2)	-4,56	0,0561
HAUS6-201	HAUS augmin like complex subunit 6(HAUS6)	-4,53	0,0740
TUBA4A-202	tubulin alpha 4a(TUBA4A)	-3,52	0,0351
PPIE-214	peptidylprolyl isomerase E(PPIE)	-2,71	0,0426
CCNB1-204	cyclin B1(CCNB1)	-2,25	0,0466

PABPC1-209	poly(A) binding protein cytoplasmic 1(PABPC1)	-1,90	0,0004
NOL11-201	nucleolar protein 11(NOL11)	-1,83	0,0879
TRAT1-201	T cell receptor associated transmembrane adaptor 1(TRAT1)	-1,46	0,0401
LRRC8A-203	leucine rich repeat containing 8 VRAC subunit A(LRRC8A)	-1,23	0,0139
TIMM10B-201	translocase of inner mitochondrial membrane 10B(TIMM10B)	-1,17	0,0747
TTC39B-208	tetratricopeptide repeat domain 39B(TTC39B)	-1,14	0,0018
TSPAN18-201	tetraspanin 18(TSPAN18)	-1,13	0,0979

5 DISCUSSÃO GERAL

A Hb F é considerada uma importante moduladora dos desfechos clínicos da AF e tem sido alvo de diversos estudos que investigam as causas moleculares da variação em seus níveis. Parte dessa variação tem sido atribuída à influência de moduladores genéticos, principalmente polimorfismos nos genes *BCL11A*, *HBS1L-MYB* e no cluster da beta-globina (*HBB*) (ADEYEMO *et al.*, 2018; BRAHIM *et al.*, 2024; CHAOUCH *et al.*, 2016; LETTRE *et al.*, 2008; SALES *et al.*, 2020). Ferramentas de genômica e transcriptômica têm sido empregadas para investigar o impacto molecular dos níveis de HbF e identificar moduladores ainda não caracterizados (FLANAGAN *et al.*, 2012; ROVERSI *et al.*, 2013). Com base nisso, neste estudo investigamos a associação dos polimorfismos *BCL11A* rs1427407, *BCL11A* rs4671393, *BCL11A* rs11886868 e *HBS1L-MYB* rs9399137 com os níveis de HbF e o risco de complicações clínicas da AF. Além disso, avaliamos as diferenças no perfil transcricional dos reticulócitos de pacientes com AF que apresentam níveis basais altos e baixos de HbF.

Nas análises de genotipagem, observamos que todas as variantes estudadas estavam significativamente associadas aos níveis de HbF. Indivíduos portadores de alelos protetores (genótipos variantes) exibiram níveis mais elevados de HbF, o que pode contribuir para um curso clínico mais brando da doença. Especificamente, em nossa coorte, o SNP rs9399137 explicou 14,9% da variação dos níveis de HbF, um percentual superior ao relatado em outras populações, incluindo brasileiras (AKBULUT-JERADI *et al.*, 2021; LEONARDO *et al.*, 2016; SALES *et al.*, 2020; WONKAM *et al.*, 2014).

Variantes localizadas no íntron 2 de *BCL11A* (incluindo rs1427407, rs4671393 e rs11886868) apresentam fortes implicações funcionais, pois essa região abriga diversos elementos regulatórios envolvidos na reorganização da cromatina (BAUER *et al.*, 2013). Polimorfismos que sobrepõem esses elementos funcionais reduzem a ligação de fatores de transcrição, afetando assim a expressão de *BCL11A* e a repressão dos genes da globina gama, resultando no aumento da produção de HbF (SALES *et al.*, 2022a; SANKARAN *et al.*, 2008). Variantes na região intergênica *HBS1L-MYB* reduzem a ligação de fatores de transcrição eritroides, interferindo nas interações de longo alcance com o *MYB* e nos seus níveis de expressão, o que impacta diretamente a regulação da globina gama (STADHOUDERS *et al.*, 2014).

Pacientes sintomáticos (aqueles que desenvolveram pelo menos uma complicação clínica estudada) apresentaram níveis medianos de HbF significativamente mais baixos em comparação com os pacientes sem complicações, reforçando o papel protetor da HbF elevada nos desfechos clínicos da AF. Com isso, também avaliamos a associação das variantes genéticas de *BCL11A* e *HBS1L-MYB* com o risco e a incidência cumulativa de complicações clínicas. Observamos que pacientes portadores de genótipos ancestrais para essas variantes exibiram maior incidência cumulativa e risco de desenvolvimento de AVC, osteonecrose, priapismo, síndrome torácica aguda (STA) e úlceras de perna.

O aumento do risco observado em indivíduos com genótipos homozigotos ancestrais sugere que pacientes que não possuem alelos relacionados ao aumento da Hb F apresentam níveis mais baixos dessa hemoglobina e, conseqüentemente, maior risco de manifestações clínicas graves da doença. Em particular, o genótipo TT do polimorfismo *HBS1L-MYB* rs9399137 apresentou o efeito mais pronunciado, contribuindo independentemente para um maior risco de AVC, osteonecrose, STA e úlceras de perna. Esse achado é condizente com as associações observadas nos níveis de HbF, visto que os pacientes portadores do alelo variante do rs9399137 apresentaram níveis significativamente mais elevados de HbF, o que possivelmente confere proteção contra essas complicações clínicas.

Nossos resultados corroboram achados anteriores de que variantes genéticas associadas ao aumento da HbF influenciam a ocorrência de complicações clínicas na AF, principalmente aquelas que levam a maior necessidade de hospitalização, como episódios de crise vaso-oclusiva e STA (CHAOUCH *et al.*, 2016; EL-GHAMRAWY *et al.*, 2020; LETTRE *et al.*, 2008; UPADHYE *et al.*, 2016). Além disso, nosso estudo foi o primeiro a demonstrar, em uma coorte bem caracterizada, que variantes em *BCL11A* e *HBS1L-MYB* estão associadas à ocorrência de outras complicações graves da doença, como AVC, osteonecrose, priapismo e úlceras de perna, evidenciando o impacto dessas variantes não apenas na modulação dos níveis de HbF, mas também na predisposição a manifestações multissistêmicas severas da AF. Esses achados reforçam a importância do perfil genético na estratificação de risco e no entendimento dos mecanismos biológicos subjacentes às complicações da doença.

Para avaliar o efeito combinado das quatro variantes analisadas neste estudo, criamos um escore de risco genético (ERG), que considera o impacto cumulativo dos

alelos de risco (isto é, os alelos não associados a níveis elevados de HbF). Nossos resultados indicam que o ERG está fortemente associado aos níveis de HbF e ao risco de desenvolvimento de todas as complicações clínicas avaliadas. Em nossa análise, um número crescente de alelos de risco correlacionou-se a níveis mais baixos de HbF e a um risco aumentado de complicações, enfatizando o efeito cumulativo dos moduladores genéticos da HbF na gravidade da AF.

De maneira semelhante, Milton et al. (2014) desenvolveram um conjunto de 14 modelos de risco genético, incorporando múltiplos SNPs nos genes *BCL11A*, *HBS1L-MYB* e no cluster de receptores olfativos, os quais explicaram mais de 20% da variabilidade nos níveis de HbF em diferentes coortes (MILTON *et al.*, 2014). Além disso, uma abordagem alternativa de ERG, integrando quatro variantes envolvendo os genes *BCL11A*, *HBS1L-MYB* e o cluster da beta-globina, em uma única variável quantitativa, g(HbF), demonstrou correlação com níveis de HbF elevados, além de estar associada a uma menor taxa de hospitalizações e maiores níveis de hemoglobina (GARDNER *et al.*, 2018). Em populações brasileiras com AF, um escore de alelos benéficos (incluindo SNPs em *BCL11A* e *HBS1L-MYB*) foi correlacionado positivamente com os níveis de HbF e com uma redução no número de complicações (LEONARDO *et al.*, 2016).

Nossos achados reforçam essas observações e trazem novos *insights*, demonstrando uma associação significativa entre o ERG e múltiplas complicações clínicas da AF. Ao integrar múltiplos *loci* de risco, o ERG melhora a precisão preditiva e oferece maior potencial para estratificação de risco na AF. Essas observações ressaltam a importância de considerar a contribuição conjunta de múltiplos SNPs para prever o risco de complicações graves na doença. Apesar da influência dessas variantes genéticas nos níveis de HbF, uma proporção significativa da variabilidade permanece inexplicada. Essa herança ausente pode ser atribuída a interações gene-gene, modificações epigenéticas ou à presença de variantes raras com efeitos pequenos, mas relevantes. Nesse sentido para entender como altos níveis de Hb F afeta o perfil transicional eritroide e identificar possíveis novos moduladores da globina gama, realizamos uma análise de sequenciamento do RNA (RNAseq) em reticulócitos de pacientes com AF e níveis variados de Hb F

A análise de expressão gênica identificou 89 genes diferencialmente expressos (DEGs) entre os grupos, dos quais a maioria foi regulada positivamente. O gene

CLEC12A foi um dos mais diferencialmente expressos, enquanto o gene *HBG2*, que codifica uma das cadeias da HbF, também apresentou maior expressão no grupo de Hb F elevado. Curiosamente, vários DEGs foram enriquecidos em vias relacionadas à inflamação, defesa celular e resposta imune, incluindo *PYCARD*, *BTNL8*, *PAK1*, *TYROBP*, *TRAT1*, *NINJ1*, *IFNAR2-IL10RB*, *CFP*, *PRAM1*, *SH2B2*, *SPG21*, *CMKLR1*. A principal função dos eritrócitos humanos está relacionada ao transporte e entrega de oxigênio. No entanto, evidências crescentes sugerem que essas células também desempenham um papel fundamental em diversos aspectos do sistema imunológico.

A análise do transcriptoma de células eritroides nucleadas humanas provenientes da medula óssea adulta, do sangue do cordão umbilical e do parênquima hepático fetal revelou uma grande similaridade na expressão gênica com os reticulócitos, com enriquecimento de diversos genes em termos relacionados à imunidade (PERIK-ZAVODSKII *et al.*, 2022). A alta expressão de *PYCARD* foi identificada nas últimas fases de maturação dos precursores eritroides nucleados humanos (MELLO *et al.*, 2019). Essas observações corroboram a hipótese de que células da linhagem eritrocítica humana, incluindo os reticulócitos, possuem potencial para participar de mecanismos de resposta imune e inflamação.

Vários genes foram enriquecidos em termos associados à polimerização/despolimerização e organização da actina. *PAK1*, *WASH6P*, *WASHC1*, *MSRB1* e *MSRB2* estavam todos regulados positivamente no grupo com altos níveis de Hb F, e de acordo com a função desses genes, esse achado sugere que os reticulócitos com altos níveis de Hb F podem apresentar melhor reologia celular, maior estabilização do citoesqueleto e redução na geração de espécies reativas de oxigênio. Esses achados estão de acordo com o fato de que níveis elevados de Hb F na AF, sejam basais ou induzidos pela HU, estão associados a uma melhor reologia dos eritrócitos falcizados (BALLAS; CONNES, 2018). Além disso, a Hb F, ao reduzir a falcização intravascular, leva à redução do estresse oxidativo e ao aumento da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) (DASGUPTA *et al.*, 2010).

Observamos que, no grupo com altos níveis de Hb F, os genes *EPB41L4A* e *DACT1* estavam regulados negativamente, enquanto o gene *WLS* estava regulado positivamente. *EPB41L4A*, *DACT1* e *WLS* estão envolvidos na regulação do citoesqueleto e na via de sinalização Wnt/ β -catenina, sugerindo que altos níveis de Hb F podem estar associados à ativação dessa via (BÄNZIGER *et al.*, 2006;

CHEYETTE *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2020). A via Wnt/ β -catenina regula processos celulares essenciais, incluindo a diferenciação de células hematopoiéticas. Sua ativação em eritrócitos humanos foi associada à maior flexibilidade e resistência da membrana celular, além de aumento do tempo de vida (SIMAN-TOV *et al.*, 2021). Além disso, foi observado que a proteína ANTXR1 pode influenciar a expressão da gama globina por meio da via Wnt/ β -catenina, indicando um possível papel desta via na regulação dos níveis de Hb F (JIN *et al.*, 2022a, 2022b). Com base nisso, sugerimos que a ativação da via de sinalização Wnt/ β -catenina pode contribuir para a melhora da função do citoesqueleto eritrocitário na AF, e esse efeito pode estar relacionado, em certa medida, à regulação da expressão da gama globina e aos altos níveis de Hb F.

O RNAseq é uma metodologia que pode detectar genes expressos e quantificar versões alternativas de genes individuais. Assim, identificamos 168 transcritos diferencialmente expressos pertencentes a 162 genes exclusivos. O transcrito mais regulado positivamente foi *NEDD4L-225*, transcrito pelo gene *NEDD4L*, que está envolvido em processos como endocitose, transporte vesicular e regulação positiva de processos multicelulares. Esse gene codifica uma proteína que medeia a ubiquitinação de múltiplos alvos, direcionando-os para a degradação lisossomal (XIE *et al.*, 2021). Um estudo recente avaliando o transcriptoma de reticulócitos na AF identificou *NEDD4L*, entre 54 genes cuja expressão eritroide estava associada a uma eritropoiese mais eficaz, refletida por níveis mais altos de hemoglobina e hematócrito. A maioria desses genes estava relacionada à ubiquitinação de proteínas, sugerindo que a regulação positiva desse processo pode reduzir o dano oxidativo causado pela polimerização da Hb S nos eritrócitos (ZHANG *et al.*, 2023).

Dentre os transcritos regulados negativamente, encontramos o *KDM1A-207* (LSD1), o qual foi enriquecido em vias biológicas relacionadas com processos de metabolismo e transcrição de RNA. O gene *KDM1A* promove a desmetilação de lisinas, especialmente na histona H3, contribuindo para a repressão epigenética da expressão gênica. Esse gene é essencial para o desenvolvimento normal dos eritrócitos e faz parte de um complexo, juntamente com o BCL11A, associado à repressão da expressão da gama globina (THIJS *et al.*, 2020; XU *et al.*, 2013). A inibição farmacológica do KDM1A, por meio de inibidores como tranilcipromina (TCP) e RN-1, demonstrou aumentar a expressão da gama globina em progenitores

eritroides humanos e modelos animais (RIVERS *et al.*, 2015; SHI *et al.*, 2013). Portanto, nossos achados confirmam que a redução da expressão de *KDM1A* está associada a níveis mais elevados de Hb F, reforçando seu papel como um regulador epigenético da expressão da gama globina.

Por fim, outro transcrito regulado negativamente, *ASH1L-214*, está envolvido em modificações epigenéticas por meio de sua atividade metiltransferase de histonas. Esse gene foi identificado como um possível regulador da beta globina na β -talassemia, estando correlacionado com a diferenciação de progenitores eritroides humanos e a expressão da beta globina (BRETON *et al.*, 2016). Nossos achados sugerem que *ASH1L* também pode desempenhar um papel na regulação da gama globina, embora essa hipótese ainda precise de validação experimental.

O uso de reticulócitos pode representar uma limitação, pois essas são células mais tardias na diferenciação eritroide, podendo diferir dos precursores eritroides iniciais encontrados na medula óssea. No entanto, eles mantêm um perfil de expressão gênica semelhante ao dos precursores hematopoiéticos, o que os torna uma população celular adequada para investigar a síntese de hemoglobina. Além disso, a falta de validação experimental dos genes diferencialmente expressos constitui uma limitação do nosso estudo. Assim, análises adicionais em coortes maiores ainda são necessárias para confirmar e aprofundar as associações identificadas.

Em resumo, nosso estudo revela novas evidências sobre o papel das variantes genéticas de *BCL11A* e *HBS1L-MYB* na modulação dos níveis de HbF e no risco de complicações clínicas graves da AF. Além disso, o padrão de expressão sugere que reticulócitos de pacientes com níveis elevados de Hb F apresentam melhora na reologia celular, estabilização do citoesqueleto e redução da geração de espécies reativas de oxigênio. A via de sinalização Wnt/ β -catenina pode estar mais ativa em pacientes com altos níveis de Hb F, contribuindo para melhores parâmetros de reologia celular. Finalmente, o transcrito de *KDM1A*, foi regulado negativamente em altos níveis de Hb F, confirmando seu papel na regulação da gama-globina, enquanto o gene *ASH1L* pode ser um potencial modulador da gama globina. Assim, a identificação de genes e vias biológicas associadas pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas voltadas para a indução da HbF, o que poderia representar um avanço no manejo da doença.

6 CONCLUSÕES

1. Os polimorfismos nos genes *BCL11A* (rs4671393, rs1427407, rs11886868) e *HBS1L-MYB* (rs9399137) estão significativamente associados aos níveis de Hb F, reforçando seu papel como moduladores genéticos da expressão da γ -globina;
2. Esses polimorfismos estão independentemente associados ao risco e à incidência cumulativa de complicações clínicas da AF, incluindo AVC, osteonecrose, úlceras de perna, priapismo e síndrome torácica aguda;
3. Um escore de risco genético, refletindo o efeito combinado dessas variantes, está significativamente associado aos níveis de Hb F e ao risco de desenvolvimento de complicações clínicas da AF, sugerindo seu potencial como ferramenta preditiva na prática clínica;
4. Foram identificados 89 genes diferencialmente expressos e 168 transcritos diferencialmente expressos entre os grupos de pacientes com níveis altos e baixos de Hb F;
5. A anotação funcional dos genes e transcritos diferencialmente expressos revelou que níveis elevados de Hb F estão associados à expressão de genes envolvidos em diversos processos biológicos, como resposta imune, inflamação, organização do citoesqueleto, equilíbrio redox, apoptose, transdução de sinais intracelulares e expressão de RNA;
6. O perfil de expressão gênica dos reticulócitos de pacientes com Hb F elevada sugere melhora na reologia celular, estabilização do citoesqueleto e redução da geração de espécies reativas de oxigênio, fatores que podem contribuir para a proteção contra complicações da AF.
7. A ativação da via de sinalização Wnt/ β -catenina pode estar relacionada a melhores parâmetros de reologia celular em pacientes com Hb F elevada, reforçando o papel dessa via na modulação da estrutura e função eritrocitária.
8. O transcrito do gene *KDM1A* apresentou expressão reduzida no grupo com Hb F elevada, confirmando seu papel na regulação da expressão da γ -globina.

REFERÊNCIAS

ABDALLA ELSAYED, M. E. A.; MURA, M.; AL DHIBI, H.; SCHELLINI, S.; MALIK, R.; KOZAK, I.; SCHATZ, P. Sickle cell retinopathy. A focused review. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, [s. l.], v. 257, p. 1353–1364, 2019.

ABDULWAHAB, H.; ALJISHI, M.; SULTAN, A.; AL-KAJAJI, G.; SRIDHARAN, K.; BAKHIET, M.; TAHA, S. Whole blood transcriptomic analysis reveals PLSCR4 as a potential marker for vaso-occlusive crises in sickle cell disease. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–9, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01702-8>.

ABODERIN, F. I.; ODUOLA, T.; DAVISON, G. M.; OGUNTIBEJU, O. O. A Review of the Relationship between the Immune Response, Inflammation, Oxidative Stress, and the Pathogenesis of Sickle Cell Anaemia. **Biomedicines**, [s. l.], v. 11, n. 9, 2023.

ABRAHAM, A. A.; TISDALE, J. F. Gene therapy for sickle cell disease: moving from the bench to the bedside. **Blood**, [s. l.], v. 138, n. 11, p. 932–941, 2021.

ACCIOLY, J. Anemia falciforme –apresentação de um caso com infantilismo. **Arquivo da Universidade da Bahia –Faculdade de Medicina da Bahia**, [s. l.], v. 2, p. 169–198, 1947. Disponível em: www.artebahianeira.com/sobre-nos/.

ADEKILE, A. The genetic and clinical significance of fetal hemoglobin expression in sickle cell disease. **Medical Principles and Practice**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 201–211, 2021.

ADEKILE, A.; MENZEL, S.; GUPTA, R.; AL-SHARIDA, S.; FARAG, A.; HAIDER, M.; AKBULUT, N.; MUSTAFA, N.; THEIN, S. Response to hydroxyurea among Kuwaiti patients with sickle cell disease and elevated baseline HbF levels. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 90, n. 7, p. E137–E138, 2015.

ADESINA, O. O.; NEUMAYR, L. D. Osteonecrosis in sickle cell disease: an update on risk factors, diagnosis, and management. **Hematology**, [s. l.], v. Dec, n. 1, p. 351–358, 2019.

ADEYEMO, T. A.; OJEWUNMI, O. O.; OYETUNJI, I. A.; ROOKS, H.; REES, D. C.; AKINSULIE, A. O.; AKANMU, A. S.; THEIN, S. L.; MENZEL, S. A survey of genetic fetal-haemoglobin modifiers in Nigerian patients with sickle cell anaemia. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 1–10, 2018.

AHMED, M. H.; GHATGE, M. S.; SAFO, M. K. Hemoglobin: Structure, Function and Allostery. *Em: VERTEBRATE AND INVERTEBRATE RESPIRATORY PROTEINS*,

LIPOPROTEINS AND OTHER BODY FLUID PROTEINS. [S. I.]: Springer, Cham, 2020. p. 345–382.

AKBULUT-JERADI, N.; FERNANDEZ, M. J.; AL KHALDI, R.; SUKUMARAN, J.; ADEKILE, A. Unique Polymorphisms at BCL11A, HBS1L-MYB and HBB Loci Associated with HbF in Kuwaiti Patients with Sickle Cell Disease. **Journal of Personalized Medicine**, [s. I.], v. 11, n. 6, p. 1–11, 2021.

AKINSHEYE, I.; ALSULTAN, A.; SOLOVIEFF, N.; NGO, D.; BALDWIN, C. T.; SEBASTIANI, P.; CHUI, D. H. K.; STEINBERG, M. H. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. **Blood**, [s. I.], v. 118, n. 1, p. 19–27, 2011.

ALAYASH, A. I. Oxidative Pathways in the Sickle Cell and Beyond. **Blood Cells Mol Dis.**, [s. I.], v. 70, n. 1, p. 78–86, 2018.

ARZOUN, H.; SRINIVASAN, M.; SAHIB, I.; FONDEUR, J.; ESCUDERO MENDEZ, L.; HAMOUDA, R. K.; MOHAMMED, L. Opioid Use in Patients With Sickle Cell Disease During a Vaso-Occlusive Crisis: A Systematic Review. **Cureus**, [s. I.], v. 14, n. 1, p. e21473, 2022.

ATWEH, G. F.; SUTTON, M.; NASSIF, I.; BOOSALIS, V.; DOVER, G. J.; WRIGHT, E.; MCMAHON, L.; STAMATOYANNOPOULOS, G.; DOUGLAS, V.; PERRINE, S. P. Sustained Induction of Fetal Hemoglobin by Pulse Butyrate Therapy in Sickle Cell Disease. **Blood**, [s. I.], v. 93, n. 6, p. 1790–1797, 1999.

AZAR, S.; WONG, T. E. Sickle Cell Disease: A Brief Update. **Medical Clinics of North America**, [s. I.], v. 101, n. 2, p. 375–393, 2017.

BALLAS, S. K.; CONNES, P. Rheological properties of sickle erythrocytes in patients with sickle-cell anemia: The effect of hydroxyurea, fetal hemoglobin, and α -thalassemia. **European Journal of Haematology**, [s. I.], v. 101, n. 6, p. 798–803, 2018.

BALLAS, S. K.; LIEFF, S.; BENJAMIN, L. J.; DAMPIER, C. D.; HEENEY, M. M.; HOPPE, C.; JOHNSON, C. S.; ROGERS, Z. R.; SMITH-WHITLEY, K.; WANG, W. C.; TELEN, M. J. Definitions of the phenotypic manifestations of sickle cell disease. **American Journal of Hematology**, [s. I.], v. 85, n. 1, p. 6–13, 2010.

BANK, A. Regulation of human fetal hemoglobin: New players, new complexities. **Blood**, [s. I.], v. 107, n. 2, p. 435–443, 2006.

BÄNZIGER, C.; SOLDINI, D.; SCHÜTT, C.; ZIPPERLEN, P.; HAUSMANN, G.; BASLER, K. Wntless, a Conserved Membrane Protein Dedicated to the Secretion of Wnt Proteins from Signaling Cells. **Cell**, [s. I.], v. 125, n. 3, p. 509–522, 2006.

BAPTISTA, L. C.; COSTA, M. L.; SURITA, F. G.; ROCHA, C. de S.; LOPES-CENDES, I.; SOUZA, B. B. de; COSTA, F. F.; MELO, M. B. de. Placental transcriptome profile of women with sickle cell disease reveals differentially expressed genes involved in migration, trophoblast differentiation and inflammation. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, [s. l.], v. 84, n. March, 2020.

BATISTA, J. V. G. F.; ARCANJO, G. S.; BATISTA, T. H. C.; SOBREIRA, M. J.; SANTANA, R. M.; DOMINGOS, I. F.; HATZLHOFFER, B. L.; FALCÃO, D. A.; PEREIRA-MARTINS, D. A.; OLIVEIRA, J. M.; ARAUJO, Amanda S.; LARANJEIRA, L. P. M.; MEDEIROS, F. S.; ALBUQUERQUE, F. P.; ALBUQUERQUE, D. M.; SANTOS, M. N.; HAZIN, M. F.; DOS ANJOS, A. C.; COSTA, F. F.; ARAUJO, Aderson S.; LUCENA-ARAÚJO, A. R.; BEZERRA, M. A. Influence of UGT1A1 promoter polymorphism, α -thalassemia and β s haplotype in bilirubin levels and cholelithiasis in a large sickle cell anemia cohort. **Annals of Hematology**, [s. l.], v. 100, n. 4, p. 903–911, 2021.

BAUER, D. E.; KAMRAN, S. C.; LESSARD, S.; XU, J.; FUJIWARA, Y.; LIN, C.; SHAO, Z.; CANVER, M. C.; SMITH, E. C.; PINELLO, L.; PETER, J.; VIERSTRA, J.; VOIT, R. A.; YUAN, G.; PORTEUS, M. H.; JOHN, A.; LETTRE, G.; ORKIN, S. H. An erythroid enhancer of BCL11A subject to genetic variation determines fetal hemoglobin level. **Science**, [s. l.], v. 342, n. 6155, p. 253–257, 2013.

BAUER, D. E.; ORKIN, S. H. Update on fetal hemoglobin gene regulation in hemoglobinopathies. **Current Opinion in Pediatrics**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 1–8, 2011.

BEET, E. A. The genetics of the sickle-cell trait in a Bantu tribe. **Annals of eugenics**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 279–284, 1949.

BERTOZZO, V. de H. e.; DA SILVA COSTA, S. M.; ITO, M. T.; CRUZ, P. R. S. da; SOUZA, B. B.; RIOS, V. M.; VITURINO, M. G. M.; CASTRO, J. N. P. de; RODRIGUES, T. A. R.; LANARO, C.; ALBUQUERQUE, D. M. de; SAEZ, R. C.; OLALLA SAAD, S. T.; OZELO, M. C.; COSTA, F. F.; MELO, M. B. de. Comparative transcriptome analysis of endothelial progenitor cells of HbSS patients with and without proliferative retinopathy. **Experimental Biology and Medicine**, [s. l.], v. 248, n. 8, p. 677–684, 2023.

BHATNAGAR, P.; KEEFER, J.; CASELLA, J.; BARRON-CASELLA, E.; BEAN, C.; HOOPER, C.; PAYNE, A.; ARKING, D.; DEBAUN, M. Association Between Baseline Fetal Hemoglobin Levels and Incidence of Severe Vaso-Occlusive Pain Episodes in Children With Sickle Cell Anemia. **Pediatric Blood & Cancer**, [s. l.], v. 60, n. February, p. 125–127, 2013.

BIANCHI, E.; ZINI, R.; SALATI, S.; TENEDINI, E.; NORFO, R.; TAGLIAFICO, E.; MANFREDINI, R.; FERRARI, S. c-myb supports erythropoiesis through the

transactivation of KLF1 and LMO2 expression. **Blood**, [s. l.], v. 116, n. 22, p. 99–111, 2010.

BITOUNGUI, V. J. N.; PULE, G. D.; HANCHARD, N.; NGOGANG, J.; WONKAM, A. Beta-Globin Gene Haplotypes Among Cameroonians and Review of the Global Distribution: Is There a Case for a Single Sickle Mutation Origin in Africa?. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 171–179, 2015.

BLOBEL, G. A.; WEISS, M. J. Nuclear Factors That Regulate Erythropoiesis. *Em: FORGET, Bernard G; HIGGS, Douglas R; STEINBERG, Martin H; WEATHERALL, David J (org.). Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management*. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2009. p. 62–85. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/FF5CD25517E0E315EF5961B5A0F070E2>.

BOU-FAKHREDIN, R.; DE FRANCESCHI, L.; MOTTA, I.; CAPPELLINI, M. D.; TAHER, A. T. Pharmacological Induction of Fetal Hemoglobin in β -Thalassemia and Sickle Cell Disease: An Updated Perspective. **Pharmaceuticals**, [s. l.], v. 15, n. 6, 2022.

BOZZA, M. T.; JENEY, V. Pro-inflammatory Actions of Heme and Other Hemoglobin-Derived DAMPs. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 11, p. 1–13, 2020.

BRAHIM, A. T.; TALEB, M.; SOUMARÉ, H.; GHABER, S. M.; MOHAMED, A.; BOUKHARY, A. O. M. S. Genotyping the BCL11A Single Nucleotide Polymorphism and Associated Levels of Fetal Hemoglobin in Mauritanian Sickle Cell Patients. **Frontiers in Bioscience - Scholar**, [s. l.], v. 16, n. 2, 2024.

BRETON, A.; THEODOROU, A.; AKTUNA, S.; SONZOGNI, L.; DARLING, D.; CHAN, L.; MENZEL, S.; VAN DER SPEK, P. J.; SWAGEMAKERS, S. M. A.; GROSVELD, F.; PHILIPSEN, S.; THEIN, S. L. ASH1L (a histone methyltransferase protein) is a novel candidate globin gene regulator revealed by genetic study of an English family with beta-thalassaemia unlinked to the beta-globin locus. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 175, n. 3, p. 525–530, 2016.

BROUSSE, V.; BUFFET, P.; REES, D. **The spleen and sickle cell disease: The sick(led) spleen**. [S. l.]: Blackwell Publishing Ltd, 2014.

BROUSSE, V.; COLIN, Y.; PEREIRA, C.; ARNAUD, C.; ODIÈVRE, M. H.; BOUTEMY, A.; GUITTON, C.; DE MONTALEMBERT, M.; LAPOUMÉROULIE, C.; PICOT, J.; LE VAN KIM, C.; EL NEMER, W. Erythroid Adhesion Molecules in Sickle Cell Anaemia Infants: Insights Into Early Pathophysiology. **EBioMedicine**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 154–157, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2014.12.006>.

BUCHANAN, G. R. “ Packaging ” of fetal hemoglobin in sickle cell anemia noncoding RNAs in erythropoiesis. **Blood**, [s. l.], v. 123, n. 4, p. 464–465, 2014.

CANÇADO, R. D.; COSTA, F. F.; LOBO, C.; MIGLIAVACA, C. B.; FALAVIGNA, M.; FILHO, H.; TOSIN BUENO, C.; SILVA-PINTO, A. C. Estimated mortality rates of individuals with sickle cell disease in Brazil: real-world evidence. **Blood Advances**, [s. l.], 2023.

CARDEN, M. A.; FASANO, R. M.; MEIER, E. R. Not all red cells sickle the same: contributions of the reticulocyte to disease pathology in sickle cell anemia. **Blood Rev.**, [s. l.], v. 40, p. 1–18, 2021.

CARIA, C. A.; FAÀ, V.; RISTALDI, M. S. Krüppel-Like Factor 1: A Pivotal Gene Regulator in Erythropoiesis. **Cells**, [s. l.], v. 11, n. 19, p. 1–19, 2022.

CARTRON, J. P.; ELION, J. Erythroid adhesion molecules in sickle cell disease: Effect of hydroxyurea. **Transfusion Clinique et Biologique**, [s. l.], v. 15, n. 1–2, p. 39–50, 2008.

CHAOUCH, L.; MOUMNI, I.; OURAGINI, H.; DARRAGI, I.; KALAI, M.; CHAOUACHI, D.; BOUDRIGUA, I.; HAFSIA, R.; ABBES, S. rs11886868 and rs4671393 of BCL11A associated with HbF level variation and modulate clinical events among sickle cell anemia patients. **Hematology (United Kingdom)**, [s. l.], v. 21, n. 7, p. 425–429, 2016.

CHARACHE, S.; TERRIN, M. L.; MOORE, R. D.; DOVER, G. J.; BARTON, F. B.; ECKERT, S. V.; MCMAHON, R. P.; BONDS, D. R. Effect of Hydroxyurea on the Frequency of Painful Crises in Sickle Cell Anemia. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 332, n. 20, p. 1317–1322, 1995.

CHEN, G.; ZHANG, D.; FUCHS, T. A.; MANWANI, D.; WAGNER, D. D.; FRENETTE, P. S. Heme-induced neutrophil extracellular traps contribute to the pathogenesis of sickle cell disease. **Blood**, [s. l.], v. 123, n. 24, p. 3818–3827, 2014. Disponível em: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/123/24/3818/1377284/3818.pdf>.

CHEYETTE, B. N. R.; WAXMAN, J. S.; MILLER, J. R.; TAKEMARU, K. I.; SHELDAHL, L. C.; KHLEBTSOVA, N.; FOX, E. P.; EARNEST, T.; MOON, R. T. Dapper, a Dishevelled-associated antagonist of β -catenin and JNK signaling, is required for notochord formation. **Developmental Cell**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 449–461, 2002.

COLLINS, F. S.; WEISSMAN, S. M. **The Molecular Genetics of Hemoglobin**. [S. l.: s. n.] 1984.v. 31.

CONNES, P.; RENOUX, C.; JOLY, P.; NADER, E. Vascular pathophysiology of sickle cell disease. **Presse Med.**, [s. l.], v. 52, n. 4, 2023.

CONRAN, N.; BELCHER, J. D. Inflammation in sickle cell disease. **Clinical hemorheology and microcirculation**, [s. l.], v. 68, n. 2–3, p. 263–299, 2018.

CONRAN, N.; EMBURY, S. H. Sickle cell vaso-occlusion: The dialectic between red cells and white cells. **Experimental Biology and Medicine**, [s. l.], v. 246, n. 12, p. 1458–1472, 2021.

CORDOVIL, K.; TASSINARI, W.; OLIVEIRA, R. de V. C. de; HÖKERBERG, Y. Social inequalities in the temporal trend of mortality from sickle cell disease in Brazil, 1996–2019. **Cadernos de saude publica**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. e00256421, 2023.

CREARY, S.; SHRESTHA, C. L.; KOTHA, K.; MINTA, A.; FITCH, J.; JARAMILLO, L.; ZHANG, S.; PINTO, S.; THOMPSON, R.; RAMILO, O.; WHITE, P.; MEJIAS, M. A.; KOPP, B. T. Baseline and Disease-Induced Transcriptional Profiles in Children with Sickle Cell Disease. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.

DASGUPTA, T.; FABRY, M. E.; KAUL, D. K. Antisickling property of fetal hemoglobin enhances nitric oxide bioavailability and ameliorates organ oxidative stress in transgenic-knockout sickle mice. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, [s. l.], v. 298, p. 394–402, 2010.

DE FRANCESCHI, L.; CAPPELLINI, M. D.; OLIVIERI, O.; FRANCESCHI, L. De; CAPPELLINI, M. D.; OLIVIERI, O. Thrombosis and sickle cell disease. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 226–36, 2011.

DESAI, P.; ATAGA, K. The acute chest syndrome of sickle cell disease. **Expert Opin. Pharmacother.**, [s. l.], 2013.

DOMINGOS, I. F.; PEREIRA-MARTINS, D. A.; BORGES-MEDEIROS, R. L.; FALCAO, D. A.; HATZLHOFER, B. L.; BREWIN, J. N.; GARDNER, K.; MENDONCA, T. F.; CAVALCANTI, M. S.; CUNHA, A. F.; ANJOS, A. C.; RODRIGUES, E. S.; KASHIMA, S.; CRUZ, P. R.; MELO, M. B.; MENZEL, S.; ARAUJO, A. S.; COSTA, F. F.; BEZERRA, M. A.; LUCENA-ARAÚJO, A. R. Evaluation of oxidative stress-related genetic variants for predicting stroke in patients with sickle cell anemia. **Journal of the Neurological Sciences**, [s. l.], v. 414, n. April, p. 116839, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116839>.

EATON, W. A. Hemoglobin S polymerization and sickle cell disease: A retrospective on the occasion of the 70th anniversary of Pauling's Science paper. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 95, n. 2, p. 205–211, 2020.

EATON, W. A.; BUNN, H. F. Treating Sickle Cell Disease by Targeting HbS Polymerization. **Blood**, [s. l.], v. 2017, p. 1–18, 2017.

EL-GHAMRAWY, M.; YASSA, M. E.; TOUSSON, A. M. S.; EL-HADY, M. A.; MIKHAEIL, E.; MOHAMED, N. B.; KHORSHIED, M. M. Association between BCL11A, HSB1L-MYB, and XmnI γ G-158 (C/T) gene polymorphism and hemoglobin F level in Egyptian sickle cell disease patients. **Annals of Hematology**, [s. l.], v. 99, n. 10, p. 2279–2288, 2020.

ESOH, K.; WONKAM, A. Evolutionary history of sickle-cell mutation: Implications for global genetic medicine. **Human Molecular Genetics**, [s. l.], v. 30, n. R1, p. R119–R128, 2021.

ESRICK, E. B.; LEHMANN, L. E.; BIFFI, A.; ACHEBE, M.; BRENDEL, C.; CIUCULESCU, M. F.; DALEY, H.; MACKINNON, B.; MORRIS, E.; FEDERICO, A.; ABRISS, D.; BOARDMAN, K.; KHELLADI, R.; SHAW, K.; NEGRE, H.; NEGRE, O.; NIKIFOROW, S.; RITZ, J.; PAI, S.-Y.; LONDON, W. B.; DANSEREAU, C.; HEENEY, M. M.; ARMANT, M.; MANIS, J. P.; WILLIAMS, D. A. Post-Transcriptional Genetic Silencing of BCL11A to Treat Sickle Cell Disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 384, n. 3, p. 205–215, 2021.

FERRONE, F. A. Targeting HbS Polymerization. **Seminars in Hematology**, [s. l.], v. 55, n. 2, p. 53–59, 2018.

FERRONE, F. A. The delay time in sickle cell disease after 40 years: A paradigm assessed. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 90, n. 5, p. 438–445, 2015.

FIGUEIREDO, R. T.; FERNANDEZ, P. L.; MOURAO-SA, D. S.; PORTO, B. N.; DUTRA, F. F.; ALVES, L. S.; OLIVEIRA, M. F.; OLIVEIRA, P. L.; GRAÇA-SOUZA, A. V.; BOZZA, M. T. Characterization of heme as activator of toll-like receptor 4. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 282, n. 28, p. 20221–20229, 2007.

FLANAGAN, J. M.; STEWARD, S.; HOWARD, T. A.; MORTIER, N. A.; KIMBLE, A. C.; AYGUN, B.; HANKINS, J. S.; NEALE, G. A.; WARE, R. E. Hydroxycarbamide alters erythroid gene expression in children with sickle cell anaemia. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 157, n. 2, p. 240–248, 2012.

FONTANA, L.; ALAHOZOU, Z.; MICCIO, A.; ANTONIOU, P. Epigenetic Regulation of β -Globin Genes and the Potential to Treat Hemoglobinopathies through Epigenome Editing. **Genes**, [s. l.], v. 14, n. 3, 2023.

FORGET, B. G.; FRANKLIN BUNN, H. Classification of the disorders of hemoglobin. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [s. l.], v. 3, n. 2, 2013.

FORGET, B. G.; HARDISON, R. C. The Normal Structure and Regulation of Human Globin Gene Clusters. *Em: DISORDERS OF HEMOGLOBIN*. [S. l.]: Cambridge

University Press, 2009. p. 46–61. Disponível em: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9780511596582A015/type/book_part. Acesso em: 31 ago. 2023.

FRANCO, R. S.; YASIN, Z.; PALASCAK, M. B.; CIRAOLO, P.; JOINER, C. H.; RUCKNAGEL, D. L. The effect of fetal hemoglobin on the survival characteristics of sickle cells. **Blood**, [s. l.], v. 108, n. 3, p. 1073–1076, 2006.

FRENETTE, P. S.; ATWEH, G. F. Sickle cell disease : old discoveries , new concepts , and future promise. **The Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 117, n. 4, p. 850–58 doi:10.1172/JCI30920, 2007.

GARDNER, K.; FULFORD, T.; SILVER, N.; ROOKS, H.; ANGELIS, N.; ALLMAN, M.; NKYA, S.; MAKANI, J.; HOWARD, J.; KESSE-ADU, R.; REES, D. C.; STUART-SMITH, S.; YEGHEN, T.; AWOGBADE, M.; SANGEDA, R. Z.; MGAYA, J.; PATEL, H.; NEWHOUSE, S.; MENZEL, S.; THEIN, S. L. G(HbF): A genetic model of fetal hemoglobin in sickle cell disease. **Blood Advances**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 235–239, 2018.

GBD 2021 SICKLE CELL DISEASE COLLABORATORS. Global, regional, and national prevalence and mortality burden of sickle cell disease, 2000–2021: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2021. **The Lancet Haematology**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. e585–e599, 2023.

GBOTOSHO, O.; KAPETANAKI, M.; KATO, G. The Worst Things in Life are Free: The Role of Free Heme in Sickle Cell Disease. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 11, p. 1–22, 2021.

GBOTOSHO, O. T.; TAYLOR, M.; MALIK, P. Cardiac pathophysiology in sickle cell disease. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 248–259, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11239-021-02414-6>.

GEE, B. E.; PEARSON, A.; BUCHANAN-PERRY, I.; SIMON, R. P.; ARCHER, D. R.; MELLER, R. Whole Blood Transcriptome Analysis in Children with Sickle Cell Anemia. **Frontiers in Genetics**, [s. l.], v. 12, n. January, p. 1–14, 2022.

GIARDINE, B.; BORG, J.; VIENNAS, E.; PAVLIDIS, C.; MORADKHANI, K.; JOLY, P.; BARTSAKOULIA, M.; RIEMER, C.; MILLER, W.; TZIMAS, G.; WAJCMAN, H.; HARDISON, R. C.; PATRINOS, G. P. Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 42, n. D1, p. 1063–1069, 2014.

HABARA, A. H.; SHAIKHO, E. M.; STEINBERG, M. H. Fetal Hemoglobin in Sickle Cell Anemia: The Arab-Indian Haplotype and New Therapeutic Agents. **Am J Hematol**, [s. l.], v. 92, p. 1233–1242, 2017.

HARDISON, R. C. Evolution of hemoglobin and its genes. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [s. l.], v. 2, n. 12, 2012.

HARDOUIN, G.; MAGRIN, E.; CORSIA, A.; CAVAZZANA, M.; MICCIO, A.; SEMERARO, M. Sickle Cell Disease: From Genetics to Curative Approaches. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, [s. l.], v. 24, p. 255–275, 2023.

HARIHARAN, P.; NADKARNI, A. Insight of fetal to adult hemoglobin switch: Genetic modulators and therapeutic targets. **Blood Reviews**, [s. l.], v. 49, n. xxxx, p. 100823, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.blre.2021.100823>.

HARJU, S.; MCQUEEN, K. J.; PETERSON, K. R. Chromatin structure and control of β -like globin gene switching. **Experimental Biology and Medicine**, [s. l.], v. 227, n. 9, p. 683–700, 2002.

HARJU-BAKER, S.; COSTA, F. C.; FEDOSYUK, H.; NEADES, R.; PETERSON, K. R. Silencing of A γ -Globin Gene Expression during Adult Definitive Erythropoiesis Mediated by GATA-1-FOG-1-Mi2 Complex Binding at the -566 GATA Site . **Molecular and Cellular Biology**, [s. l.], v. 28, n. 10, p. 3101–3113, 2008.

HARTEVELD, C. L.; ACHOUR, A.; ARKESTEIJN, S. J. G.; TER HUURNE, J.; VERSCHUREN, M.; BHAGWANDIEN-BISOEN, S.; SCHAAP, R.; VIJFHUIZEN, L.; EL IDRISSE, H.; KOOPMANN, T. T. The hemoglobinopathies, molecular disease mechanisms and diagnostics. **International Journal of Laboratory Hematology**, [s. l.], v. 44, n. S1, p. 28–36, 2022.

HEBBEL, R. P. Ischemia-reperfusion injury in sickle cell anemia: Relationship to acute chest syndrome, endothelial dysfunction, arterial vasculopathy, and inflammatory pain. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 181–198, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hoc.2013.11.005>.

HEBBEL, R. P.; BELCHER, J. D.; VERCELLOTTI, G. M. **The multifaceted role of ischemia/reperfusion in sickle cell anemia**. [S. l.]: American Society for Clinical Investigation, 2020.

HENRY, E. R.; CELLMER, T.; DUNKELBERGER, E. B.; METAFERIA, B.; HOFRICHTER, J.; LI, Q. Allosteric control of hemoglobin S fiber formation by oxygen and its relation to the pathophysiology of sickle cell disease. **PNAS**, [s. l.], v. 117, n. 26, p. 15018–15027, 2020.

HERRICK, J. Peculiar Elongated and Sickle-Shaped Red Blood Corpuscles in a Case of Severe Anemia. **Arch Intern Med (Chic)**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 517–521, 1910.

HINES, P. C.; CALLAGHAN, M. U.; ZAIDI, A. U.; GAO, X.; LIU, K.; WHITE, J.; TARASEV, M. Flow adhesion of whole blood to P-selectin: a prognostic biomarker for vaso-occlusive crisis in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 194, n. 6, p. 1074–1082, 2021.

HUISMAN, T. H. J. The structure and function of normal and abnormal haemoglobins. **Bailliere's Clinical Haematology**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1–30, 1993.

HUTTLE, A.; MAESTRE, G.; LANTIGUA, R.; GREEN, N. Sickle Cell in Sickle Cell Disease in Latin America and the United States. **Pediatr Blood Cancer**, [s. l.], v. 62, p. 1131–1136, 2015.

IDRIS, I. M.; BURNETT, A. L.; DEBAUN, M. R. Epidemiology and treatment of priapism in sickle cell disease. **Hematology**, [s. l.], p. 450–452, 2022.

JANG, T.; POPLAWSKA, M.; CIMPEANU, E.; MO, G.; DUTTA, D.; LIM, S. H. Vaso-occlusive crisis in sickle cell disease: a vicious cycle of secondary events. **Journal of Translational Medicine**, [s. l.], v. 19, n. 1, 2021.

JIN, T.; ZHANG, Z.; HAN, Y.; LI, D.; LIU, J.; JIANG, M.; KURITA, R.; NAKAMURA, Y.; HU, F.; FANG, X.; HUANG, S.; SUN, Z. ANTXR1 Regulates Erythroid Cell Proliferation and Differentiation through wnt/ β -Catenin Signaling Pathway in Vitro and in Hematopoietic Stem Cell. **Disease Markers**, [s. l.], v. 2022, p. 1–15, 2022a.

JIN, T.; ZHANG, Z.; HAN, Y.; LI, D.; LIU, J.; JIANG, M.; ZHU, J.; KURITA, R.; NAKAMURA, Y.; HU, F.; XU, Y.; FANG, X.; HUANG, S.; SUN, Z. Transmembrane Protein ANTXR1 Regulates γ -Globin Expression by Targeting the Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. **Journal of Immunology Research**, [s. l.], v. 2022, p. 1–17, 2022b.

JUNIOR, G. B.; DAHER, E.; ROCHA, F. A. Osteoarticular involvement in sickle cell disease. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 156–164, 2012.

KATO GJ, HEBBEL RP, STEINBERG MH, G. MT. Vasculopathy in Sickle Cell Disease: Biology, Pathophysiology, Genetics, Translational Medicine and New Research Directions. **Am J Hematol**, [s. l.], v. 84, n. 9, p. 618–625, 2009.

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 Reviews**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 37–47, 2007.

KATO, G. J.; PIEL, F. B.; REID, C. D.; GASTON, M. H.; OHENE-FREMPONG, K.; KRISHNAMURTI, L.; SMITH, W. R.; PANEPINTO, J. A.; WEATHERALL, D. J.;

COSTA, F. F.; VICHINSKY, E. P. Sick cell disease. **Nat. Rev. Dis. Primers**, [s. l.], v. 4, n. 18010, p. 1–22, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2018.10>.

KATO, G. J.; STEINBERG, M. H.; GLADWIN, M. T. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 127, n. 3, p. 750–760, 2017.

KATSUMURA, K. R.; DEVILBISS, A. W.; POPE, N. J.; JOHNSON, K. D.; BRESNICK, E. H. Transcriptional mechanisms underlying hemoglobin synthesis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [s. l.], v. 3, n. 9, p. 1–20, 2013.

KAUL, D. K.; FABRY, M. E.; SUZUKA, S. M.; ZHANG, X. Antisickling fetal hemoglobin reduces hypoxia-inducible factor-1 α expression in normoxic sickle mice: microvascular implications. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, [s. l.], v. 304, n. 55, p. 42–50, 2013.

KIM-SHAPIRO, D. B. Structure and Function of Hemoglobin and Its Dysfunction in Sickle Cell Disease. *Em*: FORGET, Bernard G; HIGGS, Douglas R; STEINBERG, Martin H; WEATHERALL, David J (org.). **Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2009. p. 101–118. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/142ED587455836551880E38E0081097C>.

KUYPERS, F. A. Hemoglobin S polymerization and red cell membrane changes. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 155–179, 2014.

LAMSFUS-CALLE, A.; DANIEL-MORENO, A.; ANTONY, J. S.; EPTING, T.; HEUMOS, L.; BASKARAN, P.; ADMARD, J.; CASADEI, N.; LATIFI, N.; SIEGMUND, D. M.; KORMANN, M. S. D.; HANDGRETINGER, R.; MEZGER, M. Comparative targeting analysis of KLF1, BCL11A, and HBG1/2 in CD34+ HSPCs by CRISPR/Cas9 for the induction of fetal hemoglobin. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020.

LANZKRON, S.; STROUSE, J. J.; WILSON, R.; BEACH, M. C.; HAYWOOD, C.; PARK, H.; WITKOP, C.; BASS, E. B.; SEGAL, J. B. Systematic review: Hydroxyurea for the treatment of adults with sickle cell disease. **Ann Intern Med**, [s. l.], v. 148, n. 12, p. 939–955, 2008.

LAPOUMEROUILLIE, C.; CONNES, P.; EL HOSS, S.; HIERSO, R.; CHARLOT, K.; LEMONNE, N.; ELION, J.; LE VAN KIM, C.; ROMANA, M.; HARDY-DESSOURCES, M. D. New insights into red cell rheology and adhesion in patients with sickle cell anaemia during vaso-occlusive crises. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 185, n. 5, p. 991–994, 2019.

LAVELLE, D.; DOUGLAS, J.; SAUNTHARARAJAH, Y. Fetal Hemoglobin Induction by Epigenetic Drugs. **Seminars in Hematology**, [s. l.], p. 1–8, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1053/j.seminhematol.2018.04.008>.

LEONARDO, F. C.; BRUGNEROTTO, A. F.; DOMINGOS, I. F.; FERTRIN, K. Y.; DE ALBUQUERQUE, D. M.; BEZERRA, M. A. C.; ARAÚJO, A. S.; SAAD, S. T. O.; COSTA, F. F.; MENZEL, S.; CONRAN, N.; THEIN, S. L. Reduced rate of sickle-related complications in Brazilian patients carrying HbF-promoting alleles at the BCL11A and HMIP-2 loci. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 173, n. 3, p. 456–460, 2016.

LETTRE, G.; BAUER, D. E. Fetal haemoglobin in sickle-cell disease: From genetic epidemiology to new therapeutic strategies. **The Lancet**, [s. l.], v. 387, n. 10037, p. 2554–2564, 2016. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01341-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01341-0).

LETTRE, G.; SANKARAN, V. G.; BEZERRA, M. A. C.; ARAUJO, A. S.; UDA, M.; SANNA, S.; CAO, A.; SCHLESSINGER, D.; COSTA, F. F.; HIRSCHHORN, J. N.; ORKIN, S. H. DNA polymorphisms at the BCL11A, HBS1L-MYB, and γ -globin loci associate with fetal hemoglobin levels and pain crises in sickle cell disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 105, n. 33, p. 11869–11874, 2008.

LEVINGS, P. P.; BUNGERT, J. The human β -globin locus control region. A center of attraction. **European Journal of Biochemistry**, [s. l.], v. 269, n. 6, p. 1589–1599, 2002.

LIANG, S.; MOGHIMI, B.; YANG, T. P.; STROUBOULIS, J.; BUNGERT, J. Locus control region mediated regulation of adult β -globin gene expression. **Journal of Cellular Biochemistry**, [s. l.], v. 105, n. 1, p. 9–16, 2008.

LIGHT, J.; BOUCHER, M.; BASKIN-MILLER, J.; WINSTEAD, M. Managing the Cerebrovascular Complications of Sickle Cell Disease: Current Perspectives. **Journal of Blood Medicine**, [s. l.], v. 14, n. March, p. 279–293, 2023.

LINDENAU, J. D.; WAGNER, S. C.; DE CASTRO, S. M.; HUTZ, M. H. The effects of old and recent migration waves in the distribution of HBB*S globin gene haplotypes. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 515–523, 2016.

LIU, N.; HARGREAVES, V. V.; ZHU, Q.; KURLAND, J. V.; HONG, J.; KIM, W.; SHER, F.; MACIAS-TREVINO, C.; ROGERS, J. M.; KURITA, R.; NAKAMURA, Y.; YUAN, G. C.; BAUER, D. E.; XU, J.; BULYK, M. L.; ORKIN, S. H. Direct Promoter Repression by BCL11A Controls the Fetal to Adult Hemoglobin Switch. **Cell**, [s. l.], v. 173, n. 2, p. 430–442.e17, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.016>.

LUKIN, J. A.; KONTAXIS, G.; SIMPLACEANU, V.; YUAN, Y.; BAX, A.; HO, C. Quaternary structure of hemoglobin in solution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 100, n. 2, p. 517–520, 2003.

MAHAJAN, M. C.; KARMAKAR, S.; WEISSMAN, S. M. Control of beta globin genes. **Journal of Cellular Biochemistry**, [s. l.], v. 102, n. 4, p. 801–810, 2007.

MAIRBÄURL, H.; WEBER, R. E. Oxygen transport by hemoglobin. **Comprehensive Physiology**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 1463–1489, 2012.

MARTYN, G. E.; QUINLAN, K. G. R.; CROSSLEY, M. The regulation of human globin promoters by CCAAT box elements and the recruitment of NF-Y. **Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms**, [s. l.], v. 1860, n. 5, p. 525–536, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagr.2016.10.002>.

MASON, V. R. Sick cell anemia. **JAMA**, [s. l.], v. 79, n. 16, p. 1318–1320, 1922.

MAYURANATHAN, T.; NEWBY, G. A.; FENG, R.; YAO, Y.; MAYBERRY, K. D.; LAZZAROTTO, C. R.; LI, Y.; LEVINE, R. M.; NIMMAGADDA, N.; DEMPSEY, E.; KANG, G.; PORTER, S. N.; DOERFLER, P. A.; ZHANG, J.; JANG, Y.; CHEN, J.; BELL, H. W.; CROSSLEY, M.; BHOOPALAN, S. V.; SHARMA, A.; TISDALE, J. F.; PRUETT-MILLER, S. M.; CHENG, Y.; TSAI, S. Q.; LIU, D. R.; WEISS, M. J.; YEN, J. S. Potent and uniform fetal hemoglobin induction via base editing. **Nature Genetics**, [s. l.], v. 55, n. 7, p. 1210–1220, 2023.

MCGANN, P. T.; WARE, R. E. Hydroxyurea therapy for sickle cell anemia. **Expert Opin Drug Saf**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 407–420, 2015.

MELLO, F. V.; LAND, M. G. P.; COSTA, E. S.; TEODÓSIO, C.; SANCHEZ, M. L.; BÁRCENA, P.; PERES, R. T.; PEDREIRA, C. E.; ALVES, L. R.; ORFAO, A. Maturation-associated gene expression profiles during normal human bone marrow erythropoiesis. **Cell Death Discovery**, [s. l.], v. 5, n. 1, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41420-019-0151-0>.

MENZEL, S.; GARNER, C.; GUT, I.; MATSUDA, F.; YAMAGUCHI, M.; HEATH, S.; FOGGIO, M.; ZELENKA, D.; BOLAND, A.; ROOKS, H.; BEST, S.; SPECTOR, T. D.; FARRALL, M.; LATHROP, M.; THEIN, S. L. A QTL influencing F cell production maps to a gene encoding a zinc-finger protein on chromosome 2p15. **Nature Genetics**, [s. l.], v. 39, n. 10, p. 1197–1199, 2007.

MENZEL, S.; ROOKS, H.; ZELENKA, D.; MTATIRO, S. N.; GNANAKULASEKARAN, A.; DRASAR, E.; COX, S.; LIU, L.; MASOOD, M.; SILVER, N.; GARNER, C.; VASAVDA, N.; HOWARD, J.; MAKANI, J.; ADEKILE, A.; PACE, B.; SPECTOR, T.;

FARRALL, M.; LATHROP, M.; THEIN, S. L. Global Genetic Architecture of an Erythroid Quantitative Trait Locus , HMIP-2. **Annals of Human Genetics**, [s. l.], p. 1–18, 2014.

MENZEL, S.; THEIN, S. L. Genetic Modifiers of Fetal Haemoglobin in Sickle Cell Disease. **Molecular Diagnosis and Therapy**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 235–244, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40291-018-0370-8>.

MERLE, N. S.; GRUNENWALD, A.; RAJARATNAM, H.; GNEMMI, V.; FRIMAT, M.; FIGUERES, M. L.; KNOCKAERT, S.; BOUZEKRI, S.; CHARUE, D.; NOE, R.; ROBERYBKINE, T.; LE-HOANG, M.; BRINKMAN, N.; GENTINETTA, T.; EDLER, M.; PETRILLO, S.; TOLOSANO, E.; MIESCHER, S.; LE JEUNE, S.; HOUILLIER, P.; CHAUVET, S.; RABANT, M.; DIMITROV, J. D.; FREMEAUX-BACCHI, V.; BLANC-BRUDE, O. P.; ROUMENINA, L. T. Intravascular hemolysis activates complement via cell-free heme and heme-loaded microvesicles. **JCI insight**, [s. l.], v. 3, n. 12, p. 1–17, 2018.

MICCIO, A.; BLOBEL, G. A. Role of the GATA-1/FOG-1/NuRD Pathway in the Expression of Human β -Like Globin Genes. **Molecular and Cellular Biology**, [s. l.], v. 30, n. 14, p. 3460–3470, 2010.

MILTON, J. N.; GORDEUK, V. R.; TAYLOR, J. G.; GLADWIN, M. T.; STEINBERG, M. H.; SEBASTIANI, P. Prediction of fetal hemoglobin in sickle cell anemia using an ensemble of genetic risk prediction models. **Circulation: Cardiovascular Genetics**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 110–115, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doença falciforme terá agora notificação obrigatória**. [S. l.: s. n.], 2023a. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2023/novembro/doenca-falciforme-tera-agora-notificacao-obrigatoria>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Governo Federal reforça necessidade do diagnóstico precoce da Doença Falciforme**. [S. l.: s. n.], 2022. Disponível em: [https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/junho/governo-federal-reforca-necessidade-do-diagnostico-precoce-da-doenca-falciforme#:~:text=No Brasil%2C entre 2014 e, com Doença Falciforme no País](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/junho/governo-federal-reforca-necessidade-do-diagnostico-precoce-da-doenca-falciforme#:~:text=No%2C%20entre%202014%20e%2C%20com%20Doen%C3%A7a%20Falciforme%20no%20Pa%C3%ADs).

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **PORTARIA GM/MS Nº 2.010, DE 27 DE NOVEMBRO DE 2023**. [S. l.: s. n.], 2023b. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-2.010-de-27-de-novembro-de-2023-526610162>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme-PORTARIA CONJUNTA SAES/SECTICS Nº 16, DE 01 DE NOVEMBRO DE 2024. **Ministério da Saúde**, [s. l.], p. 1–89, 2024.

MINNITI, C. P.; ECKMAN, J.; SEBASTIANI, P.; STEINBERG, M. H.; BALLAS, S. K. Leg ulcers in sickle cell disease. *Em: AMERICAN JOURNAL OF HEMATOLOGY*, 2010, [s. l.], . **Anais** [...]. [S. l.]: Wiley-Liss Inc., 2010. p. 831–833.

MOHAMMAD, S. N. N. A.; IBERAHIM, S.; WAN AB RAHMAN, W. S.; HASSAN, M. N.; EDINUR, H. A.; AZLAN, M.; ZULKAFI, Z. Single Nucleotide Polymorphisms in XMN1-HBG2, HBS1L-MYB, and BCL11A and Their Relation to High Fetal Hemoglobin Levels That Alleviate Anemia. **Diagnosics**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 1–13, 2022.

NADER, E.; CONRAN, N.; ROMANA, M.; CONNES, P. Vasculopathy in Sickle Cell Disease: From Red Blood Cell Sickling to Vascular Dysfunction. **Comprehensive Physiology**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 1785–1803, 2021.

NADER, E.; GRAU, M.; FORT, R.; COLLINS, B.; CANNAS, G.; GAUTHIER, A.; WALPURGIS, K.; MARTIN, C.; BLOCH, W.; POUTREL, S.; HOT, A.; RENOUX, C.; THEVIS, M.; JOLY, P.; ROMANA, M.; GUILLOT, N.; CONNES, P. Hydroxyurea therapy modulates sickle cell anemia red blood cell physiology: Impact on RBC deformability, oxidative stress, nitrite levels and nitric oxide synthase signalling pathway. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, [s. l.], v. 81, p. 28–35, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2018.10.003>.

NEEL, J. V. The Inheritance of Sickle Cell Anemia. **Science**, [s. l.], v. 110, p. 64–66, 1949.

NYAKUNDI, B. B.; TÓTH, A.; BALOGH, E.; NAGY, B.; ERDEI, J.; RYFFEL, B.; PARAGH, G.; CORDERO, M. D.; JENEY, V. Oxidized hemoglobin forms contribute to NLRP3 inflammasome-driven IL-1 β production upon intravascular hemolysis. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, [s. l.], v. 1865, n. 2, p. 464–475, 2019.

ODIÈVRE, M. H.; VERGER, E.; SILVA-PINTO, A. C.; ELION, J. Pathophysiological insights in sickle cell disease. **Indian Journal of Medical Research**, [s. l.], v. 134, n. 10, p. 532–537, 2011.

OFORI-ACQUAH, S. F. Sickle cell disease as a vascular disorder. **Expert Review of Hematology**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 645–653, 2020.

OLIVEIRA, J. M. F.; ARCANJO, G. S.; DOMINGOS, I. F.; HATZLHOFER, L. D.; FALC, D. A.; PIRES, C. V.; ANA, C.; COSTA, F. F.; DINIZ, M. V.; SILVA, A. P.; ARAUJO, A. S.; LUCENA-ARAÚJO, A. R.; BEZERRA, M. A. A-296G variant of THBS1 gene (rs1478605) is associated with a lower frequency of stroke in a Brazilian population with sickle cell anemia. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, [s. l.], v. 33, n. June 2023, 2024.

ORKIN, S. H.; HIGGS, D. R. Sickle Cell Disease at 100 Years. **Science**, [s. l.], v. 329, n. July, p. 291–292, 2010.

PACK-MABIEN, A. V.; IMRAN, H. Benefits of delayed fetal hemoglobin (HbF) switching in sickle cell disease (SCD): A case report and review of the literature. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, [s. l.], v. 35, n. 8, p. 347–349, 2013.

PAGNIER, J.; MEARS, J. G.; DUNDA-BELKHODJA, O.; SCHAEFER-REGO, K. E.; BELDJORD, C.; NAGEL, R. L.; LABIE, D. Evidence for the multicentric origin of the sickle cell hemoglobin gene in Africa. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 81, n. 6, p. 1771–3, 1984.

PAIKARI, A.; SHEEHAN, V. A. Fetal haemoglobin induction in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 180, n. 2, p. 189–200, 2018.

PAPAGEORGIU, D. N.; KARKOULIA, E.; AMARAL-PSARRIS, A.; BURDA, P.; KOLODZIEJ, K.; DEMMERS, J.; BUNGERT, J.; STOPKA, T.; STROUBOULIS, J. Distinct and overlapping DNMT1 interactions with multiple transcription factors in erythroid cells: Evidence for co-repressor functions. **Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms**, [s. l.], v. 1859, n. 12, p. 1515–1526, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagr.2016.09.007>.

PATRINOS, G. P.; ANTONARAKIS, S. E. Human Hemoglobin. *Em: VOGEL AND MOTULSKY'S HUMAN GENETICS: PROBLEMS AND APPROACHES (FOURTH EDITION)*. [S. l.: s. n.], 2010. p. 365–401.

PAULING, L.; ITANO, H.; SINGER, S. J.; WELLS, I. Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease. **Science**, [s. l.], v. 110, n. 3, p. 543–548, 1949.

PERIK-ZAVODSKII, R.; PERIK-ZAVODSKAIA, O.; SHEVCHENKO, J.; DENISOVA, V.; ALRHMOUN, S.; VOLYNETS, M.; TERESHCHENKO, V.; ZAITSEV, K.; SENNIKOV, S. Immune Transcriptome Study of Human Nucleated Erythroid Cells from Different Tissues by Single-Cell RNA-Sequencing. **Cells**, [s. l.], v. 11, n. 22, p. 1–20, 2022.

PERRINE, S. P.; PACE, B. S.; FALLER, D. V. Targeted fetal hemoglobin induction for treatment of beta hemoglobinopathies. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 233–248, 2014.

PERRINE, R. P.; PEMBREY, M. E.; JOHN, P.; PERRINE, S.; SHOUP, F. Natural history of sickle cell anemia in Saudi Arabs. A study of 270 subjects. **Annals of Internal Medicine**, [s. l.], v. 88, n. 1, p. 1–6, 1978.

PERUTZ, M. F. Structure and mechanism of haemoglobin. **British Medical Bulletin**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 195–208, 1976.

PETRUZZELLI, R.; GAUDINO, S.; AMENDOLA, G.; SESSA, R.; PUZONE, S.; DI CONCILIO, R.; D'URZO, G.; AMENDOLARA, M.; IZZO, P.; GROSSO, M. Role of the cold shock domain protein A in the transcriptional regulation of HBG expression. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 150, n. 6, p. 689–699, 2010.

PHILIPSEN, S.; HARDISON, R. C. Evolution of hemoglobin loci and their regulatory elements. **Blood Cells Mol Dis.**, [s. l.], v. May, n. 70, p. 2–12, 2018.

PICCIN, A.; MURPHY, C.; EAKINS, E.; RONDINELLI, M.; DAVES, M.; VECCHIATO, C.; WOLF, D.; MAHON, C. M.; SMITH, O. P. Insight into the complex pathophysiology of sickle cell anemia and possible treatment. **Eur J Haematol.**, [s. l.], v. 102, n. 4, p. 319–330, 2019.

PIEL, F. B.; HAY, S. I.; GUPTA, S.; WEATHERALL, D. J.; WILLIAMS, T. N. Global Burden of Sickle Cell Anaemia in Children under Five, 2010-2050: Modelling Based on Demographics, Excess Mortality, and Interventions. **PLoS Medicine**, [s. l.], v. 10, n. 7, 2013.

PIEL, F. B.; PATIL, A. P.; HOWES, R. E.; NYANGIRI, O. A.; GETHING, P. W.; WILLIAMS, T. N.; WEATHERALL, D. J.; HAY, S. I. Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. **Nature Communications**, [s. l.], v. 1, n. 104, 2010.

PIEL, F. B.; STEINBERG, M. H.; REES, D. C. Sickle Cell Disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 376, n. 16, p. 1561–1573, 2017. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1510865>.

PIEL, F. B.; TATEM, A. J.; HUANG, Z.; GUPTA, S.; WILLIAMS, T. N.; WEATHERALL, D. J. Global migration and the changing distribution of sickle haemoglobin: A quantitative study of temporal trends between 1960 and 2000. **The Lancet Global Health**, [s. l.], v. 2, n. 2, 2014.

PITANGA, T. N.; OLIVEIRA, R. R.; ZANETTE, D. L.; GUARDA, C. C.; SANTIAGO, R. P.; SANTANA, S. S.; NASCIMENTO, V. M. L.; LIMA, J. B.; CARVALHO, G. Q.; MAFFILI, V. V.; CARVALHO, M. O. S.; ALCÂNTARA, L. C. J.; BORGES, V. M.; GONCALVES, M. S. Sickle red cells as danger signals on proinflammatory gene expression, leukotriene B4 and interleukin-1 beta production in peripheral blood mononuclear cell. **Cytokine**, [s. l.], v. 83, p. 75–84, 2016.

PLATT, O. S. Hydroxyurea for the Treatment of Sickle Cell Anemia. **The New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 358, p. 1362–9, 2008.

PNTN-CGSH/DAET/SAES/MS. **Relatório Anual de dados do PNTN, 2020-2022**. [S. l.: s. n.], 2023.

POLANOWSKA-GRABOWSKA, R.; WALLACE, K.; FIELD, J. J.; CHEN, L.; MARSHALL, M. A.; FIGLER, R.; GEAR, A. R. L.; LINDEN, J. P-selectin-mediated platelet-neutrophil aggregate formation activates neutrophils in mouse and human sickle cell disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [s. l.], v. 30, n. 12, p. 2392–2399, 2010.

PRABHAKAR, H.; HAYWOOD, C.; MOLOKIE, R. Sickle cell disease in the United States: Looking back and forward at 100 years of progress in management and survival. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 85, n. 5, p. 346–353, 2010.

QUINN, C. T.; MILLER, S. T. Risk factors and prediction of outcomes in children and adolescents who have sickle cell anemia. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, [s. l.], v. 18, n. 6 SPEC.ISS., p. 1339–1354, 2004.

QURESHI, A.; KAYA, B.; PANCHAM, S.; KEENAN, R.; ANDERSON, J.; AKANNI, M.; HOWARD, J. Guidelines for the use of hydroxycarbamide in children and adults with sickle cell disease: A British Society for Haematology Guideline. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 181, n. 4, p. 460–475, 2018.

REITER, C. D.; WANG, X.; TANUS-SANTOS, J. E.; HOGG, N.; CANNON, R. O.; SCHECHTER, A. N.; GLADWIN, M. T. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 8, n. 12, p. 1383–1389, 2002.

RIVERS, A.; VAITKUS, K.; RUIZ, M. A.; IBANEZ, V.; JAGADEESWARAN, R.; KOUZNETSOVA, T.; DESIMONE, J.; LAVELLE, D. RN-1, a Potent and Selective LSD1 Inhibitor, Increases γ -globin Expression, F-retics, and F-cells in a Sickle Cell Disease Mouse Model. **Exp Hematol.**, [s. l.], v. 43, n. 7, p. 546–53, 2015.

ROVERSI, F.; CUNHA, A.; BRUGNEROTTO, A.; CARAZZOLLE, M.; ALBUQUERQUE, D.; LANARO, C.; MACHADO-NETO, J.; SAAD, S.; COSTA, F. Gene Expression Analysis of the Brazilian Type of Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin: Identification of Genes that Could be Related to γ -Globin Activation. **Hemoglobin**, [s. l.], v. 37, n. 6, p. 1–20, 2013.

SAAH, E.; FADAEI, P.; GURKAN, U. A.; SHEEHAN, V. Sickle Cell Disease Pathophysiology and Related Molecular and Biophysical Biomarkers. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 1077–1095, 2022.

SALES, R. R.; BELISÁRIO, A. R.; FARIA, G.; MENDES, F.; LUIZON, M. R.; VIANA, M. B. Functional polymorphisms of BCL11A and HBS1L-MYB genes affect both fetal hemoglobin level and clinical outcomes in a cohort of children with sickle cell anemia. **Annals of Hematology**, [s. l.], v. 99, n. 7, p. 1453–1463, 2020.

SALES, R. R.; NOGUEIRA, B. L.; BELISÁRIO, A. R.; FARIA, G.; MENDES, F.; VIANA, M. B.; LUIZON, M. R. Fetal hemoglobin-boosting haplotypes of BCL11A gene and HBS1L-MYB intergenic region in the prediction of clinical and hematological outcomes in a cohort of children with sickle cell anemia. **Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 67, n. 12, p. 701–709, 2022a.

SALES, R. R.; NOGUEIRA, B. L.; TOSATTI, J. A. G.; GOMES, K. B.; LUIZON, M. R. Do Genetic Polymorphisms Affect Fetal Hemoglobin (HbF) Levels in Patients With Sickle Cell Anemia Treated With Hydroxyurea? A Systematic Review and Pathway Analysis. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 12, n. January, p. 1–13, 2022b.

SANKARAN, V. G.; MENNE, T. F.; XU, J.; AKIE, T. E.; LETTRE, G.; VAN HANDEL, B.; MIKKOLA, H. K. a; HIRSCHHORN, J. N.; CANTOR, A. B.; ORKIN, S. H. Human fetal hemoglobin expression is regulated by the developmental stage-specific repressor BCL11A. **Science (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 322, n. 5909, p. 1839–42, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19056937>.

SANKARAN, V. G.; ORKIN, S. H. The Switch from Fetal to Adult Hemoglobin. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, [s. l.], 2013.

SANTOS, H. P.; DOMINGOS, C. R. B.; CASTRO, S. M. Twenty Years of Neonatal Screening for Sickle Cell Disease in Brazil: The Challenges of a Continental Country with High Genetic Heterogeneity. **Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening**, [s. l.], v. 9, p. e20210002, 2021. Disponível em: <http://www.scielo.br/jiems/>.

SAUNTHARARAJAH, Y.; MOLOKIE, R.; SARAF, S.; SIDHWANI, S.; GOWHARI, M.; VARA, S.; LAVELLE, D.; DESIMONE, J. Clinical effectiveness of decitabine in severe sickle cell disease. **Br J Haematol**, [s. l.], v. 141, n. 1, p. 126–9, 2008.

SCHECHTER, A. N. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. **Blood**, [s. l.], v. 112, n. 10, p. 3927–3938, 2008.

SERJEANT, G. R. One hundred years of sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 151, n. 5, p. 425–429, 2010.

SERJEANT, G. The emerging understanding of sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 112, n. 1, p. 3–18, 2001.

SERJEANT, G. R. The natural history of sickle cell disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [s. l.], v. 3, n. 10, p. 1–11, 2013.

SERJEANT, G. R.; VICHINSKY, E.; HERRICK, J.; MASON, V. Variability of homozygous sickle cell disease : The role of alpha and beta globin chain variation and other factors. **Blood Cells, Molecules and Diseases**, [s. l.], n. March, p. 0–1, 2017.

SHANG, S.; LI, X.; AZZO, A.; TRUONG, T.; DOZMOROV, M.; LYONS, C.; MANNA, A.; WILLIAMS, D. J.; GINDER, G. MBD2a–NuRD binds to the methylated γ -globin gene promoter and uniquely forms a complex required for silencing of HbF expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 120, n. 25, p. 1–11, 2023. Disponível em:
[http://www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.2216830120/-](http://www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.2216830120/-/DCSupplemental)
<https://doi.org/10.1073/pnas.2216830120>.

SHARMA, A.; BOELEN, J.-J.; CANCIO, M.; HANKINS, J. S.; BHAD, P.; AZIZY, M.; LEWANDOWSKI, A.; ZHAO, X.; CHITNIS, S.; PEDDINTI, R.; ZHENG, Y.; KAPOOR, N.; CICERI, F.; MACLACHLAN, T.; YANG, Y.; LIU, Y.; YUAN, J.; NAUMANN, U.; YU, V. W. C.; STEVENSON, S. C.; DE VITA, S.; LABELLE, J. L. CRISPR-Cas9 Editing of the HBG1 and HBG2 Promoters to Treat Sickle Cell Disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 389, n. 9, p. 820–832, 2023.

SHI, L.; CUI, S.; ENGEL, J. D.; TANABE, O. Lysine-specific demethylase 1 is a therapeutic target for fetal hemoglobin induction. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 291–294, 2013.

SHRINER, D.; ROTIMI, C. N. Whole-Genome-Sequence-Based Haplotypes Reveal Single Origin of the Sickle Allele during the Holocene Wet Phase. **American Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 102, n. 4, p. 547–556, 2018.

SIMAN-TOV, R.; ZELIKSON, N.; CASPI, M.; LEVI, Y.; PERRY, C.; KHAIR, F.; STAUBER, H.; SZNITMAN, J.; ROSIN-ARBESFELD, R. Circulating Wnt Ligands Activate the Wnt Signaling Pathway in Mature Erythrocytes. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [s. l.], v. 41, n. 5, p. E243–E264, 2021.

STADHOUDERS, R.; AKTUNA, S.; THONGJUEA, S.; AGHAJANIREFAH, A.; POURFARZAD, F.; VAN IJCKEN, W.; LENHARD, B.; ROOKS, H.; BEST, S.; MENZEL, S.; GROSVELD, F.; THEIN, S. L.; SOLER, E. HBS1L-MYB intergenic variants modulate fetal hemoglobin via long-range MYB enhancers. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 124, n. 4, p. 1699–1710, 2014.

STAMATOYANNOPOULOS, G. Control of globin gene expression during development and erythroid differentiation. **Experimental Hematology**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 259–271, 2005.

STAMATOYANNOPOULOS, G.; NAVAS, P. A.; LI, Q. Molecular and Cellular Basis of Hemoglobin Switching. *Em*: FORGET, Bernard G; HIGGS, Douglas R; STEINBERG, Martin H; WEATHERALL, David J (org.). **Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2009. p. 86–100. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/2B08070F8EF08988A3C98EFF4137C946>.

STEINBERG, Martin H. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. **Blood**, [s. l.], v. 136, n. 211, p. 2392–2400, 2020. Disponível em: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/136/21/2392/1789980/bloodbld2020007645.pdf>.

STEINBERG, Martin H. Fetal hemoglobin in sickle hemoglobinopathies: High HbF genotypes and phenotypes. **Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 9, n. 11, p. 1–10, 2020.

STEINBERG, M. H. Fetal-like Hemoglobin in Sickle Cell Anemia. **N Engl J Med**, [s. l.], v. 386, n. 7, p. 689–691, 2022.

STEINBERG, M. H. Management of Sickle Cell Disease. **Drug Therapy**, [s. l.], v. 340, n. 13, p. 1021–1030, 1999.

STEINBERG, M. H. Modulation of fetal hemoglobin in sickle cell anemia. **Hemoglobin**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 195–211, 2001.

STEINBERG, M. H. Sickle Cell Anemia, the First Molecular Disease: Overview of Molecular Etiology, Pathophysiology, and Therapeutic Approaches. **The Scientific World JOURNAL**, [s. l.], v. 8, p. 1295–1324, 2008. Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2008/798678/abs/>.

STEINBERG, M. H.; CHUI, D. H. K.; DOVER, G. J.; SEBASTIANI, P.; ALSULTAN, A. Perspectives Fetal hemoglobin in sickle cell anemia : a glass half full ?. **Blood**, [s. l.], v. 123, n. 4, p. 481–485, 2014.

STEINBERG, M. H.; HSU, H.; NAGEL, R. L.; MILNER, P. F.; ADAMS, J. G.; BENJAMIN, L.; FRYD, S.; GILLETTE, P.; GILMAN, J.; JOSIFOVSKA, O.; HELLMAN-ERLINGSSON, S.; SAFAYA, S.; HUEY, L.; RIEDER, R. F. Gender and haplotype effects upon hematological manifestations of adult sickle cell anemia. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 175–181, 1995.

STEINBERG, M. H.; LU, Z. H.; BARTON, F. B.; TERRIN, M. L.; CHARACHE, S.; DOVER, G. J. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: determinants of response to hydroxyurea. Multicenter Study of Hydroxyurea. **Blood**, [s. l.], v. 89, n. 3, p. 1078–88, 1997.

STEINBERG, M. H.; RODGERS, G. P. HbA2: Biology, clinical relevance and a possible target for ameliorating sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 170, n. 6, p. 781–787, 2015.

STEINBERG, M. H.; SEBASTIANI, P. Genetic modifiers of sickle cell disease. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 87, n. 8, p. 795–803, 2012.

STROUSE, J. J.; LANZKRON, S.; BEACH, M. C.; HAYWOOD, C.; PARK, H.; WITKOP, C.; WILSON, R. F.; BASS, E. B.; SEGAL, J. B. Hydroxyurea for sickle cell disease: a systematic review for efficacy and toxicity in children. **Pediatrics**, [s. l.], v. 122, n. 6, p. 1332–1342, 2008.

STUART, M. J.; NAGEL, R. L. Sickle-cell disease. **Nature**, [s. l.], v. 515, n. 7526, p. S1, 2014.

SUNDD, P.; GLADWIN, M. T.; NOVELLI, E. M. Pathophysiology of Sickle Cell Disease - Elsevier Medical Artwork. **Annu. Rev. Pathol.**, [s. l.], v. 14, p. 261–290, 2019. Disponível em: <http://www.elsevierimages.com/image/60325.htm>.

TALLACK, M. R.; PERKINS, A. C. Three fingers on the switch: Krüppel-like factor 1 regulation of γ -globin to β -globin gene switching. **Current Opinion in Hematology**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 193–200, 2013.

THEIN, S. L.; MENZEL, S. Discovering the genetics underlying foetal haemoglobin production in adults. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 145, n. 4, p. 455–467, 2009.

THEIN, S. L.; MENZEL, S.; PENG, X.; BEST, S.; JIANG, J.; CLOSE, J.; SILVER, N.; GEROVASILLI, A.; PING, C.; YAMAGUCHI, M.; WAHLBERG, K.; ULUG, P.; SPECTOR, T. D.; GARNER, C.; MATSUDA, F.; FARRALL, M.; LATHROP, M. Intergenic variants of HBS1L-MYB are responsible for a major quantitative trait locus on chromosome 6q23 influencing fetal hemoglobin levels in adults. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 104, n. 27, p. 11346–11351, 2007.

THIJS, T. C.; TRINH, V. T.; VÁZQUEZ, O.; PHILIPSEN, S. Targeted Protein Degradation as a Promising Tool for Epigenetic Upregulation of Fetal Hemoglobin. **ChemMedChem**, [s. l.], v. 15, n. 24, p. 2436–2443, 2020.

TORRES, L. S.; ASADA, N.; WEISS, M. J.; TRUMPP, A.; SUDA, T.; SCADDEN, D. T.; ITO, K. Recent advances in “sickle and niche” research - Tribute to Dr. Paul S Frenette -. **Stem Cell Reports**, [s. l.], v. 17, n. 7, p. 1509–1535, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2022.06.004>.

TORRES, L. S.; HIDALGO, A. Neutrophils as drivers of vascular injury in sickle cell disease. **Immunological Reviews**, [s. l.], 2022.

TROMPETER, S.; ROBERTS, I. Haemoglobin F modulation in childhood sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 144, n. 3, p. 308–316, 2009.

UDA, M.; GALANELLO, R.; SANNA, S.; LETTRE, G.; SANKARAN, V. G.; CHEN, W.; USALA, G.; BUSONERO, F.; MASCHIO, A.; ALBAI, G.; PIRAS, M. G.; SESTU, N.; LAI, S.; DEI, M.; MULAS, A.; CRISPONI, L.; NAITZA, S.; ASUNIS, I.; DEIANA, M.; NAGARAJA, R.; PERSEU, L.; SATTA, S.; CIPOLLINA, M. D.; SOLLAINO, C.; MOI, P.; HIRSCHHORN, J. N.; ORKIN, S. H.; ABECASIS, G. R.; SCHLESSINGER, D.; CAO, A. Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of α -thalassemia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 105, n. 5, p. 1620–1625, 2008.

UPADHYE, D.; JAIN, D.; TRIVEDI, Y.; NADKARNI, A.; GHOSH, K.; COLAH, R. Influence of single nucleotide polymorphisms in the BCL11A and HBS1L-MYB gene on the HbF levels and clinical severity of sickle cell anaemia patients. **Annals of Hematology**, [s. l.], v. 95, n. 7, p. 1201–1203, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00277-016-2675-1>.

UWAEZUOKE, S. N.; AYUK, A. C.; NDU, I. K.; ENEH, C. I.; MBANEFO, N. R.; EZENWOSU, O. U. **Vaso-occlusive crisis in sickle cell disease: Current paradigm on pain management**. [S. l.]: Dove Medical Press Ltd., 2018.

VELUSWAMY, S.; SHAH, P.; DENTON, C.; CHALACHEVA, P.; KHOO, M.; COATES, T. Vaso-Occlusion in Sickle Cell Disease: Is Autonomic Dysregulation of the Microvasculature the Trigger?. **Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 8, n. 10, p. 1690, 2019.

VENKATESAN, V.; SRINIVASAN, S.; BABU, P.; THANGAVEL, S. Manipulation of Developmental Gamma-Globin Gene Expression: an Approach for Healing Hemoglobinopathies. **Molecular and Cellular Biology**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 1–18, 2021.

VINJAMUR, D. S.; ALHASHAM, Y. N.; MOHAMAD, S. F.; AMIN, P.; WILLIAMS, D. C.; LLOYD, J. A. Krüppel-Like transcription factor KLF1 Is required for optimal γ - and β -globin expression in human fetal erythroblasts. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 1–12, 2016.

VOON, H. P. J.; VADOLAS, J. Controlling α -globin: A review of α -globin expression and its impact on β -thalassemia. **Haematologica**, [s. l.], v. 93, n. 12, p. 1868–1876, 2008.

WALKER, A. L.; CROSBY, D.; MILLER, V.; WEIDERT, F.; OFORI-ACQUAH, S. Hydroxyurea Decouples Persistent F-Cell Elevation and Induction of γ -Globin. **Experimental Hematology**, [s. l.], v. 112–113, p. 15-23.e1, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2022.07.005>.

WANG, X.; ANGELIS, N.; THEIN, S. L. MYB – A regulatory factor in hematopoiesis. **Gene**, [s. l.], v. 665, p. 6–17, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.04.065>.

WARE, R. E.; DAVIS, B. R.; SCHULTZ, W. H.; BROWN, R. C.; AYGUN, B.; SARNAIK, S.; ODAME, I.; GEORGE, A.; OWEN, W.; LUCHTMAN-JONES, L.; ROGERS, Z. R.; HILLIARD, L.; GAUGER, C.; PICCONE, C.; LEE, M. T.; KWIATKOWSKI, J. L.; JACKSON, S.; MILLER, S. T.; ROBERTS, C.; HEENEY, M. M.; KALFA, T. A.; NELSON, S.; IMRAN, H.; NOTTAGE, K.; ALVAREZ, O.; RHODES, M.; WOOD, J.; PILLER, L.; WEI, P.; LUDEN, J.; MORTIER, N. A.; STUBER, S. E.; LUBAN, N. L. C.; COHEN, A. R.; PRESSEL, S.; ADAMS, R. J. Hydroxycarbamide versus chronic transfusion for maintenance of transcranial doppler flow velocities in children with sickle cell anaemia — TCD With Transfusions Changing to Hydroxyurea (TWITCH): a multicentre , open-label , phase 3 , non-inferiority trial. **The Lancet**, [s. l.], v. 387, n. 10019, p. 661–670, 2016. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01041-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01041-7).

WARE, R. E.; DE MONTALEMBERT, M.; TSHILOLO, L.; ABBOUD, M. R. Sickle cell disease. **The Lancet**, [s. l.], v. 6736, n. 17, p. 1–13, 2017.

WATSON, J. **The significance of the paucity of sickle cells in newborn Negro infants**. [S. l.: s. n.], 1948.

WEINBERG, R. S.; JI, X.; SUTTON, M.; PERRINE, S.; GALPERIN, Y.; LI, Q.; LIEBHABER, S. A.; STAMATOYANNOPOULOS, G.; ATWEH, G. F. Butyrate increases the efficiency of translation of gamma-globin mRNA. **Blood**, [s. l.], v. 105, n. 4, p. 1807–1809, 2005.

WILBER, A.; NIENHUIS, A. W.; PERSONS, D. A. Transcriptional regulation of fetal to adult hemoglobin switching: New therapeutic opportunities. **Blood**, [s. l.], v. 117, n. 15, p. 3945–3953, 2011.

WILLIAMS, T. N.; THEIN, S. L. Sickle Cell Anemia and Its Phenotypes. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 113–147, 2018.

WONKAM, A.; NGO BITOUNGUI, V. J.; VORSTER, A. A.; RAMESAR, R.; COOPER, R. S.; TAYO, B.; LETTRE, G.; NGOGANG, J. Association of variants at BCL11A and

HBS1L-MYB with hemoglobin F and hospitalization rates among sickle cell patients in Cameroon. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 3, 2014.

XIE, S.; XIA, L.; SONG, Y.; LIU, H.; WANG, Z. W.; ZHU, X. Insights Into the Biological Role of NEDD4L E3 Ubiquitin Ligase in Human Cancers. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 11, n. November, p. 1–10, 2021.

XU, J.; BAUER, D. E.; KERENYI, M. A.; VO, T. D.; HOU, S.; HSU, Y. J.; YAO, H.; TROWBRIDGE, J. J.; MANDEL, G.; ORKIN, S. H. Corepressor-dependent silencing of fetal hemoglobin expression by BCL11A. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 110, n. 16, p. 6518–6523, 2013.

XU, J.; SANKARAN, V. G.; NI, M.; MENNE, T. F.; PURAM, R. V.; KIM, W.; ORKIN, S. H. Transcriptional silencing of γ -globin by BCL11A involves long-range interactions and cooperation with SOX6. **Genes and Development**, [s. l.], v. 24, n. 8, p. 783–789, 2010.

YALAMANOGLU, X. A.; DEUEL, J. W.; HUNT, R. C.; BAEK, J. H.; HASSELL, K.; REDINIUS, K.; IRWIN, D. C.; SCHAER, D. J.; BUEHLER, P. W. Depletion of haptoglobin and hemopexin promote hemoglobin-mediated lipoprotein oxidation in sickle cell disease. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**, [s. l.], v. 315, n. 5, p. L765–L774, 2018.

YU, X.; AZZO, A.; BILINOVICH, S. M.; LI, X.; DOZMOROV, M.; KURITA, R.; NAKAMURA, Y.; WILLIAMS, D. C.; GINDER, G. D. Disruption of the MBD2-NuRD complex but not MBD3-NuRD induces high level HbF expression in human adult erythroid cells. **Haematologica**, [s. l.], v. 104, n. 12, p. 2361–2371, 2019.

ZHANG, W.; LAI, R.; HE, X.; LIU, X.; ZHANG, Y.; YANG, Z.; YANG, P.; WANG, J.; HU, K.; YUAN, X.; ZHANG, X.; LIU, W.; JING, H. Clinical prognostic implications of EPB41L4A expression in multiple myeloma. **Journal of Cancer**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 619–629, 2020.

ZHANG, X.; SONG, J.; SHAH, B. N.; HAN, J.; HASSAN, T.; MIASNIAKOVA, G.; SERGUEEVA, A.; NEKHAI, S.; MACHADO, R. F.; GLADWIN, M. T.; SARAF, S. L.; PRCHAL, J. T.; GORDEUK, V. R. Gene expression changes in sickle cell reticulocytes and their clinical associations. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 13, p. 12864, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40039-2>.

ZHANG, D.; XU, C.; MANWANI, D.; FRENETTE, P. S. Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. **Blood**, [s. l.], v. 127, n. 7, p. 801–809, 2016.

ZHOU, W.; CLOUSTON, D. R.; WANG, X.; CERRUTI, L.; CUNNINGHAM, J. M.; JANE, S. M. Induction of Human Fetal Globin Gene Expression by a Novel Erythroid Factor, NF-E4. **Molecular and Cellular Biology**, [s. l.], v. 20, n. 20, p. 7662–7672, 2000.

ZHOU, D.; LIU, K.; SUN, C. W.; PAWLIK, K. M.; TOWNES, T. M. KLF1 regulates BCL11A expression and γ - to β -globin gene switching. **Nature Genetics**, [s. l.], v. 42, n. 9, p. 742–744, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/ng.637>.

ZHOU, W.; ZHAO, Q.; SUTTON, R.; CUMMING, H.; WANG, X.; CERRUTI, L.; HALL, M.; WU, R.; CUNNINGHAM, J. M.; JANE, S. M. The role of p22 NF-E4 in human globin gene switching. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 279, n. 25, p. 26227–26232, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M402191200>.

CURRÍCULO LATTES DURANTE O VÍNCULO COM O PPGGBM

(Currículo Lattes do(a) discente durante o período curso de doutorado)





Gabriela da Silva Arcanjo

Endereço para acessar este CV: <https://lattes.cnpq.br/4195294969318398>

Última atualização do currículo em 08/02/2025

Bacharel em Biomedicina pela Universidade Federal de Pernambuco, UFPE (2017) e mestre em Genética pelo Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular - PPGBM - UFPE. Atualmente é doutoranda pelo PPGBM - UFPE e desenvolve pesquisas no Núcleo de Hematologia Clínica e Laboratorial do Laboratório Central do Centro de Biotecnologias - CB - UFPE, atuando na área de hemoglobinopatias, anemia falciforme, biologia molecular e bioinformática sob orientação do Prof. Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra e do Prof. Dr. Antonio Roberto Lucena de Araújo. **(Texto informado pelo autor)**



Identificação

Nome	Gabriela da Silva Arcanjo
Filiação	José Marcos Arcanjo e Ana Maria da Silva Arcanjo
Nascimento	24/04/1996 - Brasil
Lattes ID	 4195294969318398
Orcid ID	 https://orcid.org/0000-0002-1736-0227
Nome em citações bibliográficas	ARCANJO, G. S.; ARCANJO, GABRIELA DA SILVA; ARCANJO, GABRIELA SILVA; ARCANJO, GABRIELA S.; DA SILVA ARCANJO, GABRIELA; ARCANJO, GABRIELA S

Idiomas

Inglês	Compreende Bem , Fala Razoavelmente , Escreve Bem , Lê Bem
---------------	--

Formação acadêmica/titulação

- 2020** Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Genética. Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: Análise da expressão diferencial de genes em indivíduos com anemia falciforme com perfis de hemoglobina fetal basal alta e baixa
Orientador: Prof. Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra 
Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Roberto Lucena de Araújo
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
- 2018 - 2020** Mestrado em Genética. Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: ANÁLISE DE VARIANTES GENÉTICAS NO GENE VDR E SUA INFLUÊNCIA NO DESENVOLVIMENTO DE COMPLICAÇÕES CLÍNICAS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ANEMIA FALCIFORME, Ano de obtenção: 2020
Orientador: Prof. Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra 
Co-orientador: Prof. Dr. Antônio Roberto Lucena de Araújo
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco, FACEPE, Brasil.
- 2024** Especialização em Hematologia Clínica e Laboratorial. Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2013 - 2017** Graduação em Biomedicina. Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: Análise da influência de polimorfismos no gene eNOS no desenvolvimento de doença cerebrovascular em pacientes pediátricos com anemia falciforme
Orientador: Jéssica Vitória Gadelha de Freitas Batista
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.
- 2010 - 2012** Ensino Médio (2o grau) . Escola Salesiana Padre Rinaldi, ESPR, Brasil

Formação complementar

- 2023 - 2023** Curso de curta duração em Expressão Gênica da extração do RNA à Análise da Expressão Relativa. (Carga horária: 8h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2023 - 2023** Curso de curta duração em R aplicado à Bioinformática. (Carga horária: 21h). CRABI - Jéssica Rodrigues Praça, CRABI, Brasil
- 2023 - 2023** Curso de curta duração em Desenho de primers e sondas: Uma abordagem teórico-prática. (Carga horária: 14h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
- 2019 - 2019** Curso de curta duração em XVI Curso de Bioinformática: Análise de Dados Moleculares. (Carga horária: 45h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2017 - 2017** Curso de curta duração em XVII Curso de Verão em Oncologia, Células-Tronco e Terapia Celular. (Carga horária: 80h). Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, FUNDHERP, Ribeirão Preto, Brasil
- 2017 - 2017** Curso de curta duração em V Curso de Interpretação do Hemograma. (Carga horária: 45h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2017 - 2017** Curso de curta duração em XXII Curso de Verão em Genética. (Carga horária: 80h). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, FMRP-USP, Brasil
- 2016 - 2016** Curso de curta duração em I Curso de Inverno em Genética Humana. (Carga horária: 30h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2016 - 2016** Curso de curta duração em I Curso de Biologia Molecular: técnicas e diagnóstico clínico. (Carga horária: 60h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2016 - 2016** Curso de curta duração em IV Curso de Interpretação do Hemograma. (Carga horária: 45h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2016 - 2016** Curso de curta duração em Curso 1000 lâminas "Citologia Hematológica". (Carga horária: 45h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2016 - 2016** Curso de curta duração em II Curso de Imersão em Líquidos Biológicos. (Carga horária: 16h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2016 - 2016** Curso de curta duração em VI Curso de PCR em tempo real: Princípios & Aplicações. (Carga horária: 30h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2016 - 2016** Curso de curta duração em Técnicas de Bandejamento Cromossômico. (Carga horária: 7h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil

- 2015 - 2015** Curso de curta duração em Biologia Forense. (Carga horária: 9h).
Renova Cursos, RC, Brasil
- 2014 - 2014** Curso de curta duração em Estatística Básica, como usá-la em experimentos?. (Carga horária: 40h).
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2013 - 2013** Curso de curta duração em Parasitologia Clínica. (Carga horária: 8h).
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil

Atuação profissional

1 Centro Universitário Dr. Leão Sampaio - UNILEAO

- 2022 - 2022** Vínculo: Professor Visitante , Enquadramento funcional: Professor convidado , Carga horária: 20, Regime: Centro Universitário Dr. Leão Sampaio Parcial
Outras informações:
Ministrou a disciplina de Hemoglobinopatias Variantes, como professor(a) convidado(a) no Curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Hematologia Clínica.

2 APESU Ensino Superior de Pernambuco Ltda - APESU

- 2024 - Atual** Vínculo: Celetista , Enquadramento funcional: Professor titular, Regime: APESU Ensino Superior de Pernambuco Ltda Parcial
Outras informações:
Professora das disciplinas de Hematologia Clínica e Hemoterapia e Banco de Sangue para os cursos de Biomedicina e Farmácia

Projetos

Projetos de pesquisa

- 2023 - Atual** Influência de SNPs nos genes CYP (1-3) sobre as concentrações de hemoglobina fetal em pacientes adultos com AF

Descrição: A hemoglobina Fetal (HbF), um modulador da gravidade da anemia falciforme (AF), predomina no período fetal e, após o nascimento, deve representar menos de 2 das hemoglobinas totais. Entretanto, ainda por razões não completamente compreendidas, alguns indivíduos apresentam síntese continuada da HbF na vida adulta e indivíduos com AF com percentuais mais elevados dessa Hb apresentam tendência a um curso clínico mais brando. Atualmente, um dos poucos medicamentos aprovados para o tratamento das comorbidades da AF é a hidroxiuréia (HU), cuja ação também está relacionada aos aumento da concentração de HbF. Estudos tem sido conduzidos com o intuito de identificar SNPs que possam, de certa forma, influenciar a resposta de pacientes com AF diante da terapia com HU. Alguns estudos avaliaram diferentes SNPs em genes candidatos a moduladores da variação da concentração da HbF, com destaque para SNPs em um membro da família do citocromo P450 (CYP2C9) e na aquaporina 9 (AQP9). As enzimas do citocromo P450 humano (CYP) além de desempenharem funções relevantes, tais como a desintoxicação de medicamentos, no metabolismo celular e na homeostase, também influenciam significativamente as respostas aos medicamentos e funções alteradas das CYPs tem sido associada a reações adversas a medicamentos e à redução da eficácia dos medicamentos. Polimorfismos genéticos e alterações epigenéticas nos genes CYP, bem como, fatores ambientais e socioeconômicos podem ser responsáveis #8203;#8203;por variações observadas entre pacientes e diferentes grupos étnicos na eficácia terapêutica dos medicamentos. Dessa forma, o presente estudo tem por objetivos investigar a possível influência de SNPs nos genes CYP (1-3) sobre as concentrações de HbF em pacientes adultos com AF em seguimento ambulatorial no Hospital do HEMOPE. Além disso, verificar a existência de associação entre esses SNPs com as complicações clínicas observadas nesses pacientes. Subprojeto vinculado ao Projeto "Avaliação farmacogenômica, efetividade e segurança relacionada à farmacogenômica integrada ao gerenciamento da terapia medicamentosa no SUS" CNPq processo #444090/2023-1, coordenado pela Profa. Dra. Patrícia Moriel
Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa
Integrantes: Gabriela da Silva Arcaño; Aderson da Silva Araújo; Antonio Roberto Lucena de Araujo; Igor de Farias Domingos; BEZERRA, MARCOS A.; Magnus Nueldo Nunes dos Santos; Patricia Moriel (Responsável); Eder de Carvalho Pincinato
Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

- 2022 - Atual** ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE RETICULÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME COM PERFS DE HEMOGLOBINA FETAL BASAL ALTA E BAIXA

Descrição: Indivíduos com anemia falciforme (AF), doença autossômica recessiva de caráter inflamatório crônico, apresentam grande heterogeneidade clínica, variando de quadros brandos até quadros com maior gravidade e inúmeras intervenções hospitalares. Evidências tem apontado o impacto de moduladores moleculares na variabilidade clínica da doença, sendo o mais bem aceito na literatura, os níveis de hemoglobina fetal (HbF). Ainda por causas pouco compreendidas, alguns indivíduos apresentam síntese elevada de HbF na vida adulta, assim, estes tendem a cursar com clínica branda, enquanto aqueles com HbF baixa tendem a ter mais manifestações decorrentes da doença. Sabendo da importância da HbF, das dúvidas que permeiam sua biologia e da limitação de fármacos disponíveis para o tratamento da AF, a investigação dos mecanismos envolvidos na manutenção de níveis elevados de HbF na vida adulta torna-se relevante. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é avaliar o transcriptoma de células eritróides de indivíduos portadores de AF com HbF alta e baixa. Serão selecionados indivíduos com AF acima de 18 anos cadastrados e acompanhados no HEMOPE. Por meio da análise dos prontuários médicos, serão selecionados 05 indivíduos com perfis de HbF basal alta (>20) e 05 indivíduos com perfil de HbF basal baixa (<5). Dos participantes serão coletados 12mL de sangue para as análises laboratoriais e moleculares. Depois de extraído, o RNA dos reticulócitos será avaliado por meio da metodologia de sequenciamento de RNA na plataforma HiSeq 2500 Illumina. Os bancos de dados do sequenciamento serão analisados através da ferramenta Htseq-count, o ambiente de desenvolvimento R e o pacote Bioconductor. Os genes diferencialmente expressos mais promissores serão validados por PCR em tempo real quantitativa. Espera-se, portanto, identificar genes diferencialmente expressos envolvidos na manutenção dos níveis de HbF. Os dados podem ser úteis na identificação de novos alvos farmacológicos para tratar e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.
Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa
Alunos envolvidos: Graduação (1); Mestrado acadêmico (2); Doutorado (3);
Integrantes: Gabriela da Silva Arcaño; Aderson da Silva Araújo; Igor de Farias Domingos; Ana Cláudia dos Anjos; Madi Veiga Diniz; Fernando Ferreira Costa; BEZERRA, MARCOS A. (Responsável); Carolina Lanaro; Alexandre Pedro da Silva; Magnus Nueldo Nunes dos Santos; Dulcinéia Martins de Albuquerque; Anderson Ferreira da Cunha; Leticia Eduarda de Oliveira; João Pedro Maia de Oliveira da Silva
Financiador(es): Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco-FACEPE

- 2021 - Atual** Análise proteogenômica na heterogeneidade clínica de pacientes com anemia falciforme

Descrição: A anemia falciforme (AF) é uma doença genética caracterizada pela produção de uma hemoglobina alterada, com consequente deformidade na estrutura das hemácias, as quais adquirem o formato de foice, favorecendo a oclusão de vasos na microcirculação, o processo hemolítico e a inflamação crônica. Devido à complexa fisiopatologia, todos os órgãos e tecidos podem ser afetados produzindo diversos fenótipos clínicos entre os indivíduos. Algumas das complicações que os acometem são eventos agudos como o acidente vascular cerebral (AVC) e o priapismo e outras são resultado de danos progressivos que ocorrem ao longo do tempo como as úlceras de perna e a osteonecrose. Embora seja resultante de uma única alteração genética, observa-se entre os pacientes com AF significativa variabilidade clínica, causada por fatores ainda pouco esclarecidos. Dessa forma, a identificação de genes e proteínas diferencialmente regulados nas diferentes complicações da doença, pode possibilitar a determinação de vias e mecanismos fisiopatológicos além de indicar possíveis alvos terapêuticos. A caracterização do perfil global proteico (proteoma) e de transcritos (transcriptoma) tem sido utilizada em estudos recentes para identificação de marcadores funcionais relacionados com resposta ao tratamento e eventos clínicos na AF. Com isso, a análise do proteogenoma permite a detecção simultânea de diversos alvos moleculares e biomarcadores potencialmente associados a desfechos clínicos. Para execução do projeto será avaliado o transcriptoma e proteoma diferencial de pacientes com AF que desenvolveram AVC, priapismo, úlcera de perna, osteonecrose e controles por meio do sequenciamento de RNA (RNAseq) e nanocromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (nUPLC-MS/MS). Os alvos moleculares diferencialmente expressos entre os grupos serão validados e analisados por ferramentas de bioinformática para análise de enriquecimento funcional e construção de interatomas.
Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa
Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (4); Doutorado (7);
Integrantes: Gabriela da Silva Arcaño; Marcos André Cavalcanti Bezerra (Responsável); Aderson da Silva Araújo; Antonio Roberto Lucena de Araujo; Betânia Lucena Domingues Hatzlhofer; Igor de Farias Domingos; Ana Cláudia dos Anjos; Madi Veiga Diniz; Ana Beatriz Moura Rafael; Danizia Menezes de Lima Silva; Fernando Ferreira Costa; Tercilio Calsa Junior; Kleber Yotsumoto Ferrin; Carolina Lanaro; Alexandre Pedro da Silva; Bruna Facanali Piellusch; Adekunle Emmanuel Alagbe; Elton Pedro Nunes Pena; Lucas Carvalho de Freitas; José Mogahid Fehine; Magnus Nueldo Nunes dos Santos; Dulcinéia Martins de Albuquerque
Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

Revisor de periódico

1 eJhaem -

- 2021 - 2021** eJhaem

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

- doi:** OLIVEIRA, JESSICA M F; **ARCANJO, GABRIELA S**; DOMINGOS, IGOR F; BATISTA, JÉSSICA V G F; PEREIRA-MARTINS, DIEGO A; BATISTA, THAIS H C; HATZLHOFER, BETÂNIA L D; FALCÃO, DIEGO A; DINIZ, MADI V; SILVA, ALEXSANDRO P; PIRES, BÁRBARA C V; DOS ANJOS, ANA C; COSTA, FERNANDO F; ARAUJO, ADERSON S; LUCENA-ARAUJO, ANTONIO R; BEZERRA, MARCOS A. A-296C variant of THBS1 gene (rs1478605) is associated with a lower frequency of stroke in a Brazilian population with sickle cell anemia. *Journal of Stroke & Cerebrovascular Diseases*. **JCR**, v.33, p.107474, 2024.
- doi:** **ARCANJO, GABRIELA S.**; SOUZA, MARIANA B.; DOMINGOS, IGOR F.; PEREIRA/MARTINS, DIEGO A.; FALCÃO, DIEGO A.; BATISTA, JESSICA V.; HATZLHOFER, BETANIA L.; DINIZ, MADI V.; SILVA, ALEXSANDRO P.; GUARANÁ, WERBSON L.; HAZIN, MANUELA F.; ARAUJO, ADERSON S.; CUNHA, ANDERSON F.; SAAD, SARA O.; COSTA, FERNANDO F.; LUCENA/ARAUJO, ANTONIO R.; BEZERRA, MARCOS ANDRÉ C.. *BMP6 and VDR gene polymorphisms are associated with osteonecrosis in a sickle cell anaemia cohort*. *British Journal of Haematology*. **JCR**, v.204, p.1507 - 1514, 2024.
- doi:** BERTI, AMANDA CRISTINA MENEGUETTI; DE CASTRO, VANESSA DA SILVEIRA RAMOS; **ARCANJO, GABRIELA SILVA**; ADERSON, LUCENA-ARAUJO, ANTONIO ROBERTO; BEZERRA, MARCOS ANDRÉ CAVALCANTI; GAZARINI, LUCAS; DA SILVA, DANILO GRÜNIG HUMBERTO; BELINI-JÚNIOR, EDIS. The endocannabinoid system's genetic polymorphisms in sickle cell anemia patients. *Scientific Reports*. **JCR**, v.14, p.31562, 2024.
- doi:** SOBREIRA, MARCONDES J.; BATISTA, THAIS H.; SANTANA, RODRIGO M.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; JORGE, SUSAN E.; SANTOS, MAGNUN N.; ALBUQUERQUE, DULCINEIA M.; HATZLHOFER, BETÂNIA L.; DOS ANJOS, ANA C.; COSTA, FERNANDO F.; ARAUJO, ADERSON S.; SONATI, MARIA F.; LUCENA-ARAUJO, ANTONIO R.; BEZERRA, MARCOS A.. Functional characterization of compound heterozygosity Hb S/Hb Deer Lodge in Brazil. *Hematology Transfusion And Cell Therapy*. **JCR**, v.46, p.S158 - S162, 2023.
- doi:** DO KLEYTON PALMEIRA, Ó.; DA SILVA FREIRE, ANA KARLA; DE NÓBREGA, DÉBORA NASCIMENTO; DOS SANTOS SOUZA, ROBERTA; FARIAS, ISABELA CRISTINA CORDEIRO; DE MENDONÇA BELMONT, TACIANA FURTADO; DA SILVA, ANDREIA SOARES; **DA SILVA ARCANJO, GABRIELA**; DA SILVA ARAUJO, ADERSON; DOS ANJOS, ANA CLÁUDIA MENDONÇA; DE ARAUJO, ANTONIO ROBERTO LUCENA; BEZERRA, MARCOS ANDRÉ CAVALCANTI; DE MOURA, PATRICIA MUNIZ MENDES FREIRE; DO SOCORRO MENDONÇA CAVALCANTI, MARIA; VASCONCELOS, LUYDSON RICHARDSON SILVA. Polymorphisms and gene expression of metalloproteinases and their inhibitors associated with cerebral ischemic stroke in young patients with sickle cell anemia. *MOLLECULAR BIOLOGY REPORTS*. **JCR**, v.50, p.3341 - 3353, 2023. **Citações:** **WEB OF SCIENCE** 3 | **SCOPUS** 2
- doi:** BATISTA, THAIS H. C.; SANTANA, RODRIGO M.; SOBREIRA, MARCONDES J.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; DOMINGOS, IGOR F.; PEREIRA/MARTINS, DIEGO A.; FALCÃO, DIEGO A.; OLIVEIRA, JESSICA M. F.; BATISTA, JÉSSICA V. G. F.; WEINHÄUSER, ISABEL; HATZLHOFER, BETÂNIA L.; JÚNIOR, WALTER L. B.; ARAUJO, ADERSON S.; DOS ANJOS, ANA C.; COSTA, FERNANDO F.; SAAD, MARIO J. A.; CARVALHO, BRUNO M.; VASCONCELOS, LUYDSON R. S.; LUCENA/ARAUJO, ANTONIO R.; BEZERRA, MARCOS A.. Up-regulation of miR-130a is related to leg ulcers in sickle cell anaemia. *BRITISH JOURNAL OF HAEMATOLOGY*. **JCR**, v.197, p.e16 - e18, 2022. **Citações:** **WEB OF SCIENCE** 3 | **SCOPUS** 3
- doi:** HATZLHOFER, BETÂNIA LUCENA DOMINGUES; PEREIRA-MARTINS, DIEGO ANTONIO; DE FARIAS DOMINGOS, IGOR; **ARCANJO, GABRIELA DA SILVA**; WEINHÄUSER, ISABEL; FALCÃO, DIEGO ARRUDA; FARIAS, ISABELA CRISTINA CORDEIRO; DE FREITAS BATISTA, JÉSSICA VITÓRIA GADELHA; PRADO, LUANA PRISCILLA LARANJEIRA; OLIVEIRA, JÉSSICA MARIA FLORENCIO; BATISTA, THAIS HELENA CHAVES; SOBREIRA, MARCONDES JOSÉ DE VASCONCELOS COSTA; DE SANTANA, RODRIGO MARCIONILO; ARAUJO, AMANDA BEZERRA DE SA; DE MELO, MANUELA ALBUQUERQUE; DE ANÇANTARA, BRUNA VASCONCELOS; COELHO-SILVA, JUAN LUIZ; DE MOURA RAFAEL; ANA BEATRIZ LUCAS; DE LIMA SILVA, DANIZIA MENEZES; ALBUQUERQUE, FLÁVIA PEIXOTO; SANTOS, MAGNUN NUELDO NUNES; DOS ANJOS, ANA CLÁUDIA; COSTA, FERNANDO FERREIRA; DA SILVA ARAUJO, ADERSON; LUCENA-ARAUJO, ANTONIO ROBERTO; BEZERRA, MARCOS ANDRÉ CAVALCANTI. Alpha thalassemia, but not β S-globin haplotypes, influence sickle cell anemia clinical outcome in a large, single-center Brazilian cohort. *ANNALS OF HEMATOLOGY*. **JCR**, v.100, p.921 - 931, 2021. **Citações:** **WEB OF SCIENCE** 5 | **SCOPUS** 6
- doi:** BATISTA, JÉSSICA V. G. F.; PEREIRA-MARTINS, DIEGO A.; FALCÃO, DIEGO A.; DOMINGOS, IGOR F.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; HATZLHOFER, BETÂNIA L.; WEINHÄUSER, ISABEL; BATISTA, THAIS H. C.; CARDOSO, PABLO R. G.; DOS ANJOS, ANA C.; HAZIN, MANUELA F.; PITTA, MAIRA G. R.; COSTA, FERNANDO F.; ARAUJO, ADERSON S.; LUCENA-ARAUJO, ANTONIO R.; BEZERRA, MARCOS A.. Association of KLOTTHO polymorphisms with clinical complications of sickle cell anemia. *ANNALS OF HEMATOLOGY*. **JCR**, v.100, p.1921 - 1927, 2021. **Citações:** **WEB OF SCIENCE** 2 | **SCOPUS** 2
- doi:** CHENOU, FRANCINE; HOUNKPE, BIDOSSESSI WILFRIED; DOMINGOS, IGOR DE FARIAS; TONASSE, WOUITCHÉKO VINCENT; BATISTA, THAIS HELENA CHAVES; SANTANA, RODRIGO MARCIONILO; **ARCANJO, GABRIELA DA SILVA**; ALAGBE, ADEKUNLE EMMANUEL; ARAUJO, ADERSON DA SILVA; LUCENA-ARAUJO, ANTONIO ROBERTO; BEZERRA, MARCOS ANDRÉ CAVALCANTI; COSTA, FERNANDO FERREIRA; SONATI, MARIA DE FÁTIMA; DE PAULA, ERICH VINICIUS; DOS SANTOS, MAGNUN NUELDO NUNES. Effect of hydroxyurea therapy on intravascular hemolysis and endothelial dysfunction markers in sickle cell anemia patients. *ANNALS OF HEMATOLOGY*. **JCR**, v.100, p.2669 - 2676, 2021. **Citações:** **WEB OF SCIENCE** 7 | **SCOPUS** 7
- doi:** MELO, MÁRCIO ANTONIO WANDERLEY DE; KERTENETZKY, MARCELO SOARES; SILVEIRA, CRISTINA MAGALHÃES DA; RIBEIRO, MAÍRA MAGALHÃES; **ARCANJO, GABRIELA DA SILVA**; LUCENA-ARAUJO, ANTONIO ROBERTO; BEZERRA, MARCOS ANDRÉ CAVALCANTI; MUNIZ, MARIA TEREZA CARTAXO; CAVALCANTI, MARIA DO SOCORRO DE MENDONÇA. Gasser cell: A biomarker of response to enzyme replacement therapy in patients with mucopolysaccharidosis type VI. *RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT*. v.10, p.e24510514726, 2021.
- doi:** BATISTA, JÉSSICA V. G. F.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; BATISTA, THAIS H. C.; SOBREIRA, MARCONDES J.; SANTANA, RODRIGO M.; DOMINGOS, IGOR F.; HATZLHOFER, BETÂNIA L.; FALCÃO, DIEGO A.; PEREIRA-MARTINS, DIEGO A.; OLIVEIRA, JÉSSICA M.; ARAUJO, AMANDA S.; LARANJEIRA, LUANA P. M.; MEDEIROS, FERNANDA S.; ALBUQUERQUE, FLÁVIA P.; ALBUQUERQUE, DULCINEIA M.; SANTOS, MAGNUN N.; HAZIN, MANUELA F.; DOS ANJOS, ANA C.; COSTA, FERNANDO F.; ARAUJO, ADERSON S.; LUCENA-ARAUJO, ANTONIO R.; BEZERRA, MARCOS A.. Influence of UGT1A1 promoter polymorphism, α -thalassemia and β s haplotype in bilirubin levels and cholelithiasis in a large sickle cell anemia cohort. *ANNALS OF HEMATOLOGY*. **JCR**, v.100, p.903 - 911, 2021. **Citações:** **WEB OF SCIENCE** 8 | **SCOPUS** 8
- doi:** Ó, KLEYTON PALMEIRA DO; MENDONÇA-BELMONT, TACIANA FURTADO DE; FARIAS, ISABELA CRISTINA CORDEIRO; SILVA, ANDREIA SOARES DA; FREIRE, ANA KARLA DA SILVA; MOURA, PATRICIA MUNIZ MENDES FREIRE DE; VASCONCELOS, LUYDSON RICHARDSON SILVA; ARAUJO, ADERSON DA SILVA; **ARCANJO, GABRIELA DA SILVA**; FALCÃO, DIEGO ARRUDA; HATZLHOFER, BETÂNIA LUCENA DOMINGUES; LUCENA-ARAUJO, ANTONIO ROBERTO; BEZERRA, MARCOS ANDRÉ CAVALCANTI; CAVALCANTI, MARIA DO SOCORRO DE MENDONÇA. LGALS3 +191A and +292C polymorphisms are associated with a reduction in serum gal-3 levels, but not with the clinical events of individuals with sickle cell anemia. *RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT*. v.9, p.e442997314, 2020.
- doi:** FARIAS, ISABELA CRISTINA CORDEIRO; MENDONÇA-BELMONT, TACIANA FURTADO; MOURA, PATRICIA MUNIZ MENDES FREIRE; DOMINGOS, IGOR FARIAS; FALCÃO, DIEGO ARRUDA; **ARCANJO, GABRIELA SILVA**; HATZLHOFER, BETÂNIA LUCENA DOMINGUES; Ó, KLEYTON PALMEIRA DO; FARIAS, JOÃO VICTOR CORDEIRO; SILVA, ANDREIA SOARES DA; VASCONCELOS, LUYDSON RICHARDSON SILVA; ARAUJO, ADERSON DA SILVA; ANJOS, ANA CLÁUDIA MENDONÇA DOS; LUCENA-ARAUJO, ANTONIO ROBERTO; CAVALCANTI, MARIA DO SOCORRO DE MENDONÇA; BEZERRA, MARCOS ANDRÉ CAVALCANTI. MBL2 gene polymorphisms are not related to the occurrence of cerebrovascular disease in sickle cell anemia. *RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT*. v.9, p.439974240 - 13, 2020.

Livros publicados

- RAMOS, D. S.; BRAZ, E.; BARBOSA, F. M. A.; **ARCANJO, G. S.**; SANTOS, K. M.; DUBEUX, M.; BERNARDO, R. N.; MARTINS, D. B. G.; LIMA FILHO, J. L.; BRANDAO, S. C. S.. *Genética descomplicada*, ed.1. , 2022, p.102.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

- BONGIOVANI, M. E. C.; PIELLUSCH, B. F.; **ARCANJO, G. S.**; ALBUQUERQUE, DULCINEIA M.; PEDROSO, G. A.; BEZERRA, MARCOS A.; COSTA, FERNANDO F.; SANTOS, MAGNUN N.. A

- ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMO DO GENE DO FATOR DE CRESCIMENTO DO ENDOTÉLIO VASCULAR COM A PRESENÇA DE ÚLCERA DE PERNA EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2024, São Paulo. **HEMO - 2024.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2024, v.46, p.S70 - S70
2. RODRIGUES, J. V. S.; MEDEIROS, M. H. S.; DINIZ, MADI V.; SILVA, ALEXSANDRO P.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; SILVA, D. R. C.; MARTINS, J. M.; BATISTA, JÉSSICA V. G. F.; BATISTA, THAIS H. C.; BEZERRA, MARCOS ANDRÉ C. ANEMIA HEMOLÍTICA MICROANGIOPÁTICA TROMBÓTICA SECUNDÁRIA AO CÂNCER DE MAMA METASTÁTICO COM INFILTRAÇÃO DA MEDULA ÓSSEA: RELATO DE CASO In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2024, São Paulo. **HEMO - 2024.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2024, v.46, p.S167 - S167
 3. BERNARDO, R. N.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; SILVA, ALEXSANDRO P.; DINIZ, MADI V.; SILVA, A. M.; SOUZA, L. M. F.; LUNA, V. E. M.; ARAUJO, ADERSON S.; HATZLHOFER, BETANIA L.; BEZERRA, MARCOS A. ASSOCIAÇÃO DOS NÍVEIS DA P-SELECTINA SOLÚVEL COM POLIMORFISMOS DO GENE SELP E A OCORRÊNCIA DE CRISES VASO-OCCLUSIVAS E OSTEONECROSE EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2024, São Paulo. **HEMO - 2024.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2024, v.46, p.S75 - S75
 4. SOUZA, L. V. D. C.; MARTINS, J. M.; RODRIGUES, J. V. S.; SILVA, D. R. C.; SILVA, ALEXSANDRO P.; DINIZ, MADI V.; BATISTA, JESSICA V.; HATZLHOFER, BETANIA L.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; BEZERRA, MARCOS A. ATUALIZAÇÕES EM TERAPIAS INOVADORAS PARA ANEMIA FALCIFORME: UMA REVISÃO DE LITERATURA In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2024, São Paulo. **HEMO - 2024.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2024, v.46, p.S102 - S103
 5. RODRIGUES, J. V. S.; MEDEIROS, M. H. S.; DINIZ, MADI V.; SILVA, ALEXSANDRO P.; **DA SILVA ARCANJO, GABRIELA S.**; SILVA, D. R. C.; MARTINS, J. M.; BATISTA, JÉSSICA V. G. F.; BATISTA, THAIS H. C.; BEZERRA, MARCOS ANDRÉ C. INFILTRAÇÃO DA MEDULA ÓSSEA EM PACIENTES COM DOENÇA LINFOPROLIFERATIVA DE CÉLULAS B E T: RELATO DE DOIS CASOS In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2024, São Paulo. **HEMO - 2024.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2024, v.46, p.S166 - S167
 6. RODRIGUES, J. V. S.; MEDEIROS, M. H. S.; DINIZ, MADI V.; SILVA, ALEXSANDRO P.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; SILVA, D. R. C.; MARTINS, J. M.; BATISTA, JÉSSICA V. G. F.; BATISTA, T. H. C.; BEZERRA, MARCOS A. PERFIL DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME E ÚLCERAS MALEOLARES In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2024, São Paulo. **HEMO - 2024.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2024, v.46, p.S101 - S102
 7. BERNARDO, R. N.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; SILVA, ALEXSANDRO P.; DINIZ, MADI V.; SILVA, A. M.; SANTOS, A. B. D.; SANTOS, G. L. G. D.; ARAUJO, ADERSON DA SILVA; HATZLHOFER, BETANIA L.; BEZERRA, MARCOS A. POLIMORFISMOS NO GENE SELP COMO MODULADORES DO QUADRO CLÍNICO DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2024, São Paulo. **HEMO - 2024.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2024, v.46, p.S74 - S75
 8. BERTI, A. C. M.; MARQUES, B.B.V.; CASTRO, V. S. R.; SOUZA-JUNIOR, L.; DIAS, I. S.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; BEZERRA, MARCOS A.; GAZARINI, L.; SILVA, D. G. H.; BELINI-JUNIOR, E. SISTEMA ENDOCANABINOIDE E ANEMIA FALCIFORME: ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES MAGL, FAAH, CNR1 E CNR2 COM ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2024, São Paulo. **HEMO - 2024.** Hematol Transfus Cell Ther - HTCT, 2024, v.46, p.S53 - S54
 9. **ARCANJO, GABRIELA S.**; PEREIRA-MARTINS, DIEGO A.; SILVA, ALEXSANDRO P.; DINIZ, MADI V.; STERNADT, D.; ANJOS, ANA C.; ARAÚJO, ADERSON DA SILVA; DOMINGOS, IGOR F.; LUCENA-ARAÚJO, ANTONIO R.; BEZERRA, MARCOS A. TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF RETICULOCYTES FROM SICKLE CELL ANEMIA PATIENTS WITH HIGH AND LOW FETAL HEMOGLOBIN LEVELS In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2024, São Paulo. **HEMO - 2024.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2024, v.46, p.S77 - S78
 10. ARAÚJO, AMANDA BEZERRA DE SÁ; **ARCANJO, GABRIELA DA SILVA**; BATISTA, J. V. G. F.; SILVA, A. P.; BRANDAO, C. A.; DE ANCANTARA, BRUNA VASCONCELOS; ANJOS, ANA C.; ARAUJO, A. S.; ARAUJO, A. R. L.; BEZERRA, M. A. C. ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO F362V (RS9536314) DO GENE KL NO DESENVOLVIMENTO DE COMPLICAÇÕES CLÍNICAS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ANEMIA FALCIFORME In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2023, São Paulo. **HEMO - 2023.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2023, v.45, p.S55 - S56
 11. BATISTA, J. V. G. F.; **ARCANJO, GABRIELA DA SILVA**; DOMINGOS, I. F.; BATISTA, T. H. C.; DINIZ, M. V.; SILVA, A. P.; ANJOS, ANA C.; ARAUJO, A. S.; ARAUJO, A. R. L.; BEZERRA, MARCOS A. ASSOCIAÇÃO DE VARIANTES GENÉTICAS NO GENE KL E DOS NÍVEIS SÉRICOS DE KLOTHO SOLÚVEL EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2023, São Paulo. **HEMO - 2023.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2023, v.45, p.S66 - S66
 12. SILVA, A. P.; **ARCANJO, G. S.**; SENA, T. S.; DINIZ, M. V.; OLIVEIRA, L. E.; ARAUJO, A. S.; ANJOS, A. C.; HATZLHOFER, B. L. D.; ARAUJO, A. R. L.; BEZERRA, M. A. C. ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO RS10754558 DO GENE NLRP3 COM A OCORRÊNCIA DE COMPLICAÇÕES CLÍNICAS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ANEMIA FALCIFORME In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2023, São Paulo. **HEMO - 2023.** São Paulo: Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2023, v.45, p.S58 - S59
 13. RAFAEL, A. B. M.; BATISTA, T. H. C.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; ALCANTARA, B. V.; SILVA, A. P.; DINIZ, M. V.; ANJOS, A. C.; ARAUJO, A. S.; ARAUJO, A. R. L.; BEZERRA, M. A. C. ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS IN THE CAV1 GENE WITH CEREBROVASCULAR DISEASE IN PEDIATRIC PATIENTS WITH SICKLE CELL ANEMIA In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2023, São Paulo. **HEMO - 2023.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2023, v.45, p.S563 - S564
 14. BERTI, A. C. M.; RAMOS, V. S.; SOUZA-JUNIOR, L.; BERNARDINO, G. A.; **ARCANJO, G. S.**; GAZARINI, L.; BEZERRA, MARCOS A.; SILVA, D. G. H.; BELINI-JUNIOR, E. ENDOCANNABINOID SYSTEM AND SICKLE CELL ANEMIA: CNR2 POLYMORPHISM IS ASSOCIATED WITH PRIAPISM In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2023, São Paulo. **HEMO - 2023.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2023, v.45, p.S54 - S55
 15. SILVA, E. S.; PEDROZA, L. A. L.; DINIZ, M. V.; SILVA, A. P.; SILVA, D. R. C.; ROSA, S. P. F.; **ARCANJO, GABRIELA DA SILVA**; BEZERRA, M. A. C. GRÂNULOS VERDES BRILHANTES: RELATO DE TRÊS CASOS CLÍNICOS COM DESFECHOS DIVERGENTES In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2023, São Paulo. **HEMO - 2023.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2023, v.45, p.S96 - S96
 16. SILVA, D. M. L.; SOUZA, M. B. S.; ARAUJO, A. B. S.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; SILVA, A. P.; DOMINGOS, I. F.; DE ANCANTARA, BRUNA VASCONCELOS; ANJOS, ANA CLÁUDIA MENDONÇA DOS; ARAUJO, A. R. L.; BEZERRA, M. A. C. INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES MMP2 E MMP9 COM COMPLICAÇÕES CEREBROVASCULARES EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ANEMIA FALCIFORME In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2023, São Paulo. **HEMO - 2023.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2023, v.45, p.S41 - S42
 17. **ARCANJO, GABRIELA S.**; BATISTA, J. V. G. F.; OLIVEIRA, J. M. F.; DOMINGOS, I. F.; HATZLHOFER, B. L. D.; ARAUJO, A. B. S.; ANJOS, A. C.; ARAUJO, A. S.; ARAUJO, A. R. L.; BEZERRA, M. A. C. ASSOCIATION OF VITAMIN D RECEPTOR (VDR) VARIANTS, HYDROXYUREA THERAPY, AND CEREBROVASCULAR DISEASE STATUS ON 25-HYDROXYVITAMIN D (25(OH)D) LEVELS IN PATIENTS WITH SICKLE CELL ANEMIA In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2022, São Paulo. **HEMO - 2022.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2022, v.44, p.S39 - S40
 18. SENA, K. N.; SOUZA, M. L. S.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; PACHECO, M. C. P. S.; SILVA, D. B. S.; SENA, J. P.; MACEDO, B. G. S.; BRANDAO, R.; ARAUJO, A. R. L.; HATZLHOFER, B. L. D. AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE METAHEMOGLOBINA EM PESCADORES EXPOSTOS AO DERRAMAMENTO DE ÓLEO NO LITORAL DE PERNAMBUCO In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2022, São Paulo. **HEMO - 2022.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2022, v.44, p.S34 - S34
 19. SOUZA, M. L. S.; SENA, K. N.; ALVES, S. P. L.; SILVA, A. P.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; MELO, J. P. B.; ANDRADE, P. G. F.; BRANDAO, C. A.; ARAUJO, A. R. L.; HATZLHOFER, B. L. D. HEMOGLOBINOPATIAS EM PESCADORES RESIDENTES NO LITORAL DO ESTADO DE PERNAMBUCO In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2022, São Paulo. **HEMO - 2022.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2022, v.44, p.S34 - S35
 20. WIDMER, R.; FERREIRA, A. I. B.; MONTEIRO, G. A. F.; LEITE, M. C. G.; FIDELIS, R. V.; FEITOSA, L. C.; BRANDAO, C.; MELO, J. P. B.; **ARCANJO, GABRIELA S.**; BEZERRA, M. A. C. GRUPOS SANGÜÍNEOS E ALOIMUNIZAÇÃO: DESAFIOS DA TESTAGEM EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME E β-TALASSEMIA In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO, 2021, São Paulo. **HEMO - 2021.** Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2021, v.43, p.S482 - S483

Apresentação de trabalho e palestra

1. **ARCANJO, GABRIELA S.** Anemia Falciforme: Da mutação genética aos avanços terapêuticos, 2024. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
2. **ARCANJO, GABRIELA S.** Diagnóstico laboratorial das anemias, 2024. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
3. **ARCANJO, GABRIELA S.** PARÂMETROS LABORATORIAIS PARA DIAGNÓSTICO DE HEMOGLOBINAS VARIANTES, 2024. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
4. **DA SILVA ARCANJO, GABRIELA.** Paradigma terapêutico e terapias avançadas para as doenças falciformes, 2023. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
5. **ARCANJO, G. S.** Hemoglobinopatias - Talassemias, fisiopatologia, formas clínicas e diagnóstico laboratorial, 2022. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
6. **ARCANJO, G. S.** Moduladores genéticos na anemia falciforme: impacto nos eventos clínicos agudos e crônicos, 2022. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
7. **ARCANJO, G. S.** Diagnóstico Laboratorial das Anemias Carenciais, 2021. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
8. **ARCANJO, G. S.** Modulação Genética na Anemia Falciforme, 2021. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
9. **ARCANJO, GABRIELA DA SILVA.** VARIABILIDADE CLÍNICA NA ANEMIA FALCIFORME: PAPEL DOS MODULADORES MOLECULARES, 2021. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
10. **ARCANJO, G. S.** Aspectos fisiopatológicos, diagnóstico laboratorial e perspectivas terapêuticas da anemia falciforme, 2020. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
11. **ARCANJO, G. S.** Diagnóstico laboratorial das hemoglobinas variantes, 2020. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)

Produção técnica

Trabalhos técnicos

1. **ARCANJO, GABRIELA S.** Comissão Científica no V Congresso Brasileiro de Hematologia Clínico-laboratorial - HEMATOCLIL, 2025
2. **ARCANJO, GABRIELA S.** Comissão Científica no IV Congresso Brasileiro de Hematologia Clínico-laboratorial On-line - HEMATOCLIL, 2024
3. **ARCANJO, GABRIELA S.** Comissão Avaliadora do III Congresso Brasileiro de Hematologia Clínico-laboratorial On-line, 2023
4. **ARCANJO, GABRIELA S.** Comissão Científica do 30º Congresso de Iniciação Científica, 14º Congresso de Iniciação ao Desenvolvimento Tecnológico e 11º Encontro de Iniciação Científica do Ensino Médio da Universidade Federal de Pernambuco, 2023
5. **ARCANJO, GABRIELA S.** Comissão Científica no 31º Congresso de Iniciação Científica, 15º Congresso de Iniciação ao Desenvolvimento Tecnológico, 2023
6. **ARCANJO, GABRIELA S.** Comissão Científica da XXVIII Semana da Biomedicina: Scientia et evolutio - UFPE, 2022
7. **ARCANJO, GABRIELA S.** Comissão Avaliadora da 26ª Ciência Jovem - Espaço Ciência de Pernambuco, 2020
8. **ARCANJO, GABRIELA S.** Comissão Científica da XXVI Semana da Biomedicina: Saúde, Ciência e Sociedade - UFPE, 2020

Demais produções técnicas

1. **DA SILVA ARCANJO, GABRIELA.** Diagnóstico laboratorial de hemoglobinas variantes, 2024. (Extensão, Curso de curta duração ministrado)

Orientações e Supervisões

Orientações e supervisões

Orientações e supervisões concluídas**Trabalhos de conclusão de curso de graduação**

1. **STÉPHANE CAROLINE SILVA PESTANA. CRISPR COMO FERRAMENTA TERAPÊUTICA NA TALASSEMIA BETA: UMA REVISÃO INTEGRATIVA.** 2024. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
2. **AMANDA BEZERRA DE SÁ ARAÚJO. CRISPR-CAS9 COMO FERRAMENTA TERAPÊUTICA NA ANEMIA FALCIFORME: ABORDAGENS MODULADORIAS DO BCL11A PARA ELEVAÇÃO DA HEMOGLOBINA FETAL.** 2024. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
3. **LÍVIA VIRGINIA DAS CHAGAS SOUZA. NOVAS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS PARA A ANEMIA FALCIFORME: UMA REVISÃO DE LITERATURA.** 2024. Curso (Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco
4. **GABRIEL LÚCIO GUIMARÃES DOS SANTOS. VARIAÇÕES GENÉTICAS ASSOCIADAS A PERSISTÊNCIA DA HEMOGLOBINA FETAL: UMA VANTAGEM CLÍNICA NA BETA-TALASSEMIA.** 2024. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
5. **TALITA DOS SANTOS SENA. ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO RS10754558 DO GENE NLRP3 NA VARIABILIDADE CLÍNICA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ANEMIA FALCIFORME.** 2023. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
6. **Letícia Eduarda de Oliveira. Análise da influência dos haplótipos β s e da alfa talassemia na variabilidade clínica de pacientes pediátricos com anemia falciforme.** 2023. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
7. **Karla Roberta Soares Rodrigues. Impacto da infecção pelo SARS-CoV-2 em pacientes com anemia falciforme.** 2023. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
8. **Loreny Bárbara Guedes de Souza. PREVALÊNCIA DE ALFA TALASSEMIA ENTRE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME NO BRASIL.** 2023. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
9. **CARLOS EDUARDO FERREIRA PACHECO. UTILIZAÇÃO DE ACALABRUTINIBE EM PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA REFRATÁRIA/RECIDIVANTE: UMA REVISÃO.** 2023. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
10. **Maria Izabel Salvador de Lima. O USO DE CRIZANLIZUMABE PARA PREVENÇÃO DE CRISES VASO OCLUSIVAS EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME: UMA REVISÃO.** 2022. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
11. **Jonathas Emanuel Santos Nogueira. Análise da Associação do Polimorfismo rs243865 do Gene MMP2 no Desenvolvimento de Doença Cerebrovascular em Pacientes Pediátricos com Anemia Falciforme.** 2021. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
12. **Paloma Gabriely Ferreira Andrade. Análise da influência do polimorfismo K173Q (rs1044498) do gene ENPP1 no desenvolvimento de doença cerebrovascular em pacientes pediátricos com**

anemia falciforme. 2021. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco. Inst. financiadora: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

13. Misiane Iva Da Cruz. **Impactos socioeconômicos causados pelas úlceras de perna em pacientes com Anemia Falciforme.** 2021. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
14. João Paulo Brito de Melo. **Investigação da associação de polimorfismos do gene SELP com a modulação do quadro clínico de pacientes com anemia falciforme.** 2021. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
15. Manuela Albuquerque de Melo. **Investigação da Associação de Polimorfismos do Gene VDR com a ocorrência de Úlceras Maleolares em Pacientes com Anemia Falciforme.** 2021. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco. Inst. financiadora: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
16. Bruna Vasconcelos de Alcântara. **Investigação da associação do polimorfismo rs238432 do gene ADCY9 com o desenvolvimento de complicações clínicas em pacientes pediátricos com anemia falciforme.** 2021. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco. Inst. financiadora: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
17. Denilson Rodrigues dos Santos. **Uso Da Hidroxiureia No Tratamento De Pacientes Com Anemia Falciforme.** 2021. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco

Orientações e supervisões em andamento

Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1. Emely Tavares De Santana E Maria Haydeé De Andrade Ramos. **ANEMIA DA DOENÇA CRÔNICA ASSOCIADA A INFECÇÕES OPORTUNISTAS EM PACIENTES VIVENDO COM HIV.** 2024. Curso (Biomedicina) - APESU Ensino Superior de Pernambuco Ltda
2. Edilma Gomes Da Silva Carvalho e Jeniffer Pollyanna Da Silva. **ANEMIA FERROPRIVA NA INFÂNCIA CAUSAS, CONSEQUÊNCIAS E DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.** 2024. Curso (Biomedicina) - APESU Ensino Superior de Pernambuco Ltda
3. Laís Macêdo Maciel. **O PAPEL DAS CITOCINAS INFLAMATÓRIAS NA MODULAÇÃO CLÍNICA DA ANEMIA FALCIFORME: REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE.** 2024. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco
4. Núbia Rafaelle Marques Felix da Silva. **O USO DO VOXELOTOR NO TRATAMENTO DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME: UMA REVISÃO.** 2024. Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco

Eventos

Eventos

Participação em eventos

1. Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular - HEMO. 2023. (Congresso) Association of polymorphisms in the CAV1 gene with cerebrovascular disease in pediatric patients with sickle cell anemia.
2. Novos tratamentos e novas opções de seguimento para Doença Falciforme. 2023. (Exposição) .
3. Apresentação de Poster / Painel no(a) I Workshop in Genetics and Molecular Biology, 2022. (Simpósio) Análise do transcriptoma de reticulócitos de indivíduos com anemia falciforme com perfis de hemoglobina fetal basal alta e baixa.

Bancas

Bancas

Participação em banca de trabalhos de conclusão

Graduação

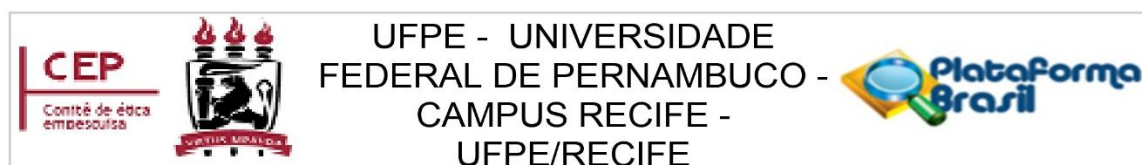
1. ARCANJO, GABRIELA SILVA; FERNANDES, P. H. E.; LIMA, B. S.. Participação em banca de FABIANA ALVES DA SILVA. **A OCORRÊNCIA DE ANEMIAS NO PERÍODO GERIÁTRICO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA.** 2024. (Biomedicina) APESU Ensino Superior de Pernambuco Ltda.
2. ARCANJO, GABRIELA S.; AGUIAR, A. M. G.; COELHO-SILVA, J. L.. Participação em banca de MARCOS AUGUSTO XAVIER DE MELO. **ASPECTOS CLÍNICOS E MOLECULARES DA LEUCEMIA MIELOMONOCÍTICA CRÔNICA (LMMC).** 2024. (Biomedicina) Universidade Federal de Pernambuco.
3. ARCANJO, GABRIELA SILVA; FERNANDES, P. H. E.; LIMA, B. S.. Participação em banca de FÁBIO DA SILVA TENÓRIO. **O IMPACTO DA LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA EM CRIANÇAS NO BRASIL: UMA REVISÃO INTEGRATIVA.** 2024. (Biomedicina) APESU Ensino Superior de Pernambuco Ltda.
4. ARCANJO, GABRIELA S.; AGUIAR, A. M. G.; FRANCA NETO, P. L.. Participação em banca de MARCELA TEMPORAL BESSONI. **O IMPACTO DE MODIFICAÇÕES PÓS-TRANSCRICIONAIS EM RNA MENSAGEIRO NA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA.** 2024. (Biomedicina) Universidade Federal de Pernambuco.
5. HATZLHOFER, B. L. D.; MACHADO, D. C.; ARCANJO, G. S.. Participação em banca de Viviane Kelly de Albuquerque Lima. **INFLUÊNCIA DE FATORES PRÓ-TROMBÓTICOS NO QUADRO CLÍNICO DE PACIENTES HEMOFÍLICOS DO TIPO A.** 2023. (Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco.
6. ARCANJO, GABRIELA DA SILVA; RIBEIRO, I. S.; SEVERO, B.. Participação em banca de Ewerton Raika Araujo de Lima. **Meningite criptocócica : uma revisão sobre o aspecto epidemiológico, patogênese, manifestações clínicas, diagnóstico e propostas terapêuticas.** 2023. (Biomedicina) Universidade Federal de Pernambuco.
7. FRANCA NETO, P. L.; AGUIAR, A. M. G.; ARCANJO, GABRIELA S.. Participação em banca de Milena Porfírio Rodrigues. **Ocorrência simultânea da translocação BCR-ABL1 e mutação JAK2V617F: uma revisão narrativa.** 2023. (Biomedicina) Universidade Federal de Pernambuco.
8. ARCANJO, GABRIELA DA SILVA; BEZERRA, MARCOS ANDRE CAVALCANTI; FRANCA NETO, P. L.. Participação em banca de LIDIANE PALOMA SANTOS. **ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE INDUZIDA PELO USO DA FLUDARABINA EM PACIENTES COM LLC ATIVA.** 2022. (Biomedicina) Universidade Federal de Pernambuco.
9. ARCANJO, G. S.; BEZERRA, M. F.; ARAUJO, A. R. L.. Participação em banca de Lílian Cassemiro Feitosa. **Avaliação da frequência e impacto prognóstico do polimorfismo WT1 SNP rs15754 em pacientes adultos com leucemia mieloide aguda.** 2022. (Biomedicina) Universidade Federal de Pernambuco.
10. REBECCHI, I. M. M.; FERNANDES, T. A. A. M.; ARCANJO, GABRIELA S.. Participação em banca de Júlia Costa Gorgônio. **O GENE KLF E SUA INFLUÊNCIA NA ANEMIA FALCIFORME: REVISÃO LITERÁRIA.** 2022. (Farmácia) Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
11. REBECCHI, I. M. M.; FERNANDES, T. A. A. M.; ARCANJO, GABRIELA S.. Participação em banca de RAÍÇA DOMINIQUE MARIANA GOMES DA COSTA BRAZ. **UMA REVISÃO SOBRE O GENE CD36 E SUA INFLUÊNCIA EM CRISES VASO- OCLUSIVAS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME.** 2022. (Farmácia) Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
12. DOMINGOS, IGOR F.; ARCANJO, GABRIELA DA SILVA; REBECCHI, I. M. M.. Participação em banca de ANTONIA PEREIRA ROSA NETO. **IMPORTÂNCIA DOS GENES DO CITOSQUELETO ERITROCITÁRIO NA MODULAÇÃO DO QUADRO CLÍNICO DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME: UM FOCO NO GENE DMTN.** 2021. (Farmácia) Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
13. DOMINGOS, IGOR FARIAS; ARCANJO, GABRIELA DA SILVA; REBECCHI, I. M. M.. Participação em banca de AMANDA VANESSA OLEGÁRIO LIMA. **O gene SPHK1 como potencial influenciador na**

modulação clínica de pacientes com anemia falciforme: uma revisão, 2021. (Farmácia) Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

14. HATZLHOFER, B. L. D.; FERREIRA, A. M. M. S.; ARCANJO, G. S., Participação em banca de Larissa Xavier de Souza. Deficiência de Fator XII da coagulação: relato de casos e revisão da literatura, 2020. (Farmácia) Universidade Federal de Pernambuco.

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 08/02/2025 às 13:46:20.

ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA UFPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE RETICULÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME COM PERFIS DE HEMOGLOBINA FETAL BASAL ALTA E

Pesquisador: GABRIELA DA SILVA ARCANJO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 42396621.0.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.620.529

Apresentação do Projeto:

O projeto intitulado “Análise do transcriptoma de reticulócitos de indivíduos com anemia falciforme com perfis de hemoglobina fetal basal alta e baixa” foi apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco, pela estudante Gabriela da Silva Arcanjo, sob a orientação do Prof. Dr André Cavalcanti Bezerra. Trata-se de um estudo do tipo transversal com comparação de grupos, a ser realizado no período de abril/2021 até dezembro/2023. O trabalho será desenvolvido no setor de Hematologia e Biologia Molecular do Laboratório Central do Centro de biociências da Universidade Federal de Pernambuco, onde serão realizados os testes moleculares. A Fundação de Hematologia de Pernambuco-HEMOPE será coparticipante, nesta instituição, as amostras serão coletadas e realizadas as análises dos prontuários dos pacientes participantes. Obedecendo a critérios estabelecidos, serão selecionados 05 indivíduos com perfis de HbF basal alta (>20%) e 05 indivíduos com perfil de HbF basal baixa (<5%). Para a coleta, será feito contato telefônico para orientação e recrutamento dos participantes. Serão coletados 12 mL de sangue: 4 mL para análises laboratoriais e 8 mL para análises moleculares. O RNA extraído dos reticulócitos será avaliado por meio da metodologia de sequenciamento de RNA na plataforma HiSeq 2500 Illumina. Os bancos de dados do sequenciamento serão analisados através da ferramenta Htseq-count, o ambiente de

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 30 de Março de 2021

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
 (Coordenador(a))

ANEXO B – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA HEMOPE

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO ESTADO

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE RETICULÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME COM PERFIS DE HEMOGLOBINA FETAL BASAL ALTA E

Pesquisador: GABRIELA DA SILVA ARCANJO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 42396621.0.3001.5195

Instituição Proponente: Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Pernambuco -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.715.364

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa de doutorado da UFPE do programa de Pós -Graduação em Genética da UFPE. A hipótese do trabalho é que existam genes diferencialmente expressos envolvidos na modulação dos níveis de hemoglobina fetal em pacientes com anemia falciforme e baixos e altos níveis basais dessa hemoglobina. Os resultados

obtidos com este estudo poderão ser úteis na busca de novos alvos farmacológicos para tratar e melhorar a qualidade de vida dos pacientes com AF, visto que irão auxiliar no entendimento de como a HbF é mantida elevada mesmo em indivíduos adultos

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 17 de Maio de 2021

Assinado por:
Maria Iraci Buarque Valença
(Coordenador(a))

ANEXO C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE BIOCÊNCIAS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa “**ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE RETICULÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME COM PERFIS DE HEMOGLOBINA FETAL BASAL ALTA E BAIXA**”, que está sob a responsabilidade da pesquisadora Gabriela da Silva Arcanjo (Endereço: Laboratório Central-Labcen UFPE, Avenida da Engenharia, SN, Cidade Universitária, Recife - 50.740-600) e sob a orientação do professor Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra. Também participam desta pesquisa: Dr. Aderson da Silva Araújo e Dr. Antonio Roberto Lucena de Araújo.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável. O (a) senhor (a) estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- A anemia falciforme é uma doença grave que altera células do seu sangue, provocando dores, o que pode estar interferindo em suas atividades do dia a dia. Esta doença é causada pela presença de uma hemoglobina alterada (molécula importante para o funcionamento das células do sangue), a hemoglobina S. Porém, alguns pacientes com anemia falciforme possuem quantidade elevada de uma hemoglobina normal, chamada de hemoglobina fetal. Tem sido observado que estes pacientes apresentam menos complicações clínicas da doença. Dessa forma, o objetivo do nosso trabalho é entender por que estes pacientes possuem maiores níveis de hemoglobina fetal e como isto pode atuar na ocorrência das complicações da doença. Dessa forma, gostaríamos que você doasse 12 ml de sangue (quantidade correspondente a 3 tubos pequenos de coleta de sangue), obtidos usando agulhas e seringas descartáveis, coletados por profissionais capacitados, uma única vez durante sua visita de rotina ao HEMOPE – Recife - PE. Gostaríamos ainda de solicitar sua autorização para utilização dos dados clínicos coletados em prontuários durante seu período de acompanhamento clínico no HEMOPE – Recife - PE.
- O risco por nós avaliado é que em função da coleta de sangue, pode haver a formação de um pequeno hematoma local, além da ocorrência de uma dor leve resultante da picada de agulha. Isto pode ser amenizado colocando compressas de gelo nas primeiras horas após a coleta, em seguida, podem ser colocadas compressas mornas para ajudar a eliminar o hematoma mais rapidamente. Além disso, existe a possibilidade de quebra de sigilo por meio da identificação dos pacientes, ainda que involuntária ou extravio dos exames dos prontuários. A forma de amenizar é por meio do compromisso, com a confidencialidade e sigilo dos dados coletados, garantindo que as informações não serão divulgadas fora desse projeto.
- Como resultado desta pesquisa não estão previstos benefícios diretos para você, entretanto, como benefício indireto os dados obtidos com este estudo poderão ser úteis na busca de novos medicamentos com alvos eficientes e poucas reações adversas para tratar e melhorar a qualidade

de vida dos pacientes com anemia falciforme.

Esclarecemos que os participantes dessa pesquisa têm plena liberdade de se recusar a participar do estudo e que esta decisão não acarretará penalização por parte dos pesquisadores. As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo. Os dados coletados nesta pesquisa ficarão armazenados em computador pessoal sob a responsabilidade do pesquisador responsável, no endereço acima informado, pelo período mínimo de 5 anos após o término da pesquisa.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, o (a) senhor (a) poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cephumanos.ufpe@ufpe.br), ou o Comitê de Ética em Pesquisa do HEMOPE, no endereço: (Rua Joaquim Nabuco, 171, Graças, Recife – PE, CEP: 52011-000, Tel.: (81) 3182.4771 – e-mail: cep.hemope@gmail.com).

(Local e data)

(Assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar no estudo **“ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE RETICULÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME COM PERFIS DE HEMOGLOBINA FETAL BASAL ALTA E BAIXA”**, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelos pesquisadores sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes da minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento).

Local e data

Assinatura do (a) participante

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do voluntário em participar.

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

ANEXO D – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA *BRITISH JOURNAL OF HAEMATOLOGY*

<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/13652141/homepage/forauthors.html>