



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

ADRIANO EVANGELISTA MAIA

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE DO FATOR REGULADOR DE
INTERFERON 8 (*IRF8*) (*rs10514611*), NA ANEMIA FALCIFORME: ASSOCIAÇÃO
COM A CLÍNICA, COM BIOMARCADORES LABORATORIAIS E COM O USO DE
HIDROXIUREIA**

FORTALEZA

2024

ADRIANO EVANGELISTA MAIA

AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE DO FATOR REGULADOR DE
INTERFERON 8 (*IRF8*) (*rs10514611*), NA ANEMIA FALCIFORME: ASSOCIAÇÃO COM
A CLÍNICA, COM BIOMARCADORES LABORATORIAIS E COM O USO DE
HIDRÓXIUREIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em patologia. Área de concentração: Medicina 2.

Orientador: Prof. Dr. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes.

Coorientador: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M184a Maia, Adriano Evangelista.
 AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE DO FATOR REGULADOR DE INTERFERON 8
 (IRF8) (rs10514611), NA ANEMIA FALCIFORME: ASSOCIAÇÃO COM A CLÍNICA, COM
 BIOMARCADORES LABORATORIAIS E COM O USO DE HIDRÓXIUREIA / Adriano Evangelista
 Maia. – 2024.
 61 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Patologia, Fortaleza, 2024.

Orientação: Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes.

Coorientação: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio.

1. Anemia Falciforme. 2. Fator Regulador de Interferon 8. 3. Polimorfismo de Nucleotídeo Único. I. Título.

CDD 571.9

ADRIANO EVANGELISTA MAIA

AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE DO FATOR REGULADOR DE
INTERFERON 8 (*IRF8*) (*rs10514611*), NA ANEMIA FALCIFORME: ASSOCIAÇÃO COM
A CLÍNICA, COM BIOMARCADORES LABORATORIAIS E COM O USO DE
HIDRÓXIUREIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em patologia. Área de concentração: Medicina 2.

Orientador: Prof. Dr. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes.

Coorientador: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio.

Aprovada em: 09/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Arlandia Cristina Lima Nobre de Moraes
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Prof. Dra. Renata Miriam Nunes Eleutério
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Dra. Yhasmine Delles Oliveira Garcia
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Terezinha Martins Evangelista
e Manoel Múcio Holanda Maia.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e pelas bênçãos e oportunidades com as quais Ele me presenteou ao longo da minha jornada.

À minha orientadora e amiga, Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes, por sua confiança em mim e dedicação à execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio pelos ensinamentos e contribuições para a realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Arlandia Cristina Lima Nobre de Moraes, à Prof. Dra. Renata Miriam Nunes Eleutério e à Dra. Yhasmine Delles Oliveira Garcia pela participação e contribuição na banca de avaliação deste trabalho.

À Universidade Federal do Ceará, todo o seu corpo docente, funcionários e colaboradores que trabalham com tanta dedicação para fazer o sonho de seus discentes uma realidade.

À equipe do HEMOCE, em especial aos técnicos de coleta por confiar e colaborar com o trabalho desenvolvido.

Aos meus pais, Terezinha e Múcio, que sempre acreditaram no meu potencial e me deram todo o apoio que era possível na caminhada da vida.

Ao meu amigo Luan Rebouças, presente em toda a minha vida que me ensinou muito mais do que ele poderia imaginar, este trabalho também é mérito dele.

Aos meus colegas e amigos de laboratório por terem feito esta caminhada mais leve e divertida.

Aos pacientes do HEMOCE e doadores de sangue, cuja participação foi imprescindível para a realização deste trabalho.

A cada um que não foi mencionado, mas que contribuiu de alguma forma para eu me tornar o que sou e ter conseguido chegar até aqui.

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

“Faça o seu melhor nas condições que você tem,
enquanto você não tem condições melhores
para fazer melhor ainda”.

(Mario Sérgio Cortella)

RESUMO

A anemia falciforme (AF) é uma doença genética que resulta de uma mutação no gene β -globina, levando à produção de hemoglobina S (HbS) e cuja principal complicação é a inflamação crônica. O gene *IRF8* está associado à resposta imune e inflamatória. Este estudo teve como objetivo determinar a frequência de um polimorfismo no gene *IRF8* e sua relação com parâmetros clínicos, laboratoriais e com o uso de hidroxiureia (HU). Este foi um estudo transversal, quantitativo e analítico que incluiu 63 pacientes com anemia falciforme e 81 doadores de sangue como grupo de controle. Foram coletadas informações dos prontuários médicos dos pacientes, tais como sociodemográficas (idade e sexo), laboratoriais (hemograma, dosagens de Ureia, Creatinina, TGO, TGP, Gama GT, Lactato desidrogenase, contagem de reticulócitos, ferro sérico, ferritina, índice de saturação da transferrina e capacidade de ligação do ferro) e complicações clínicas (acidente vascular cerebral, insuficiência renal, síndrome torácica aguda, úlcera de perna, colelitíase, coleceste e doença cardíaca). O polimorfismo no gene *IRF8* rs10514611 foi identificado usando sondas TaqMan® e reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). Os resultados significativos foram definidos com $p < 0,05$. A maioria dos pacientes foram do sexo feminino 40 (65,6%) e a maioria deles 49 (86,7%) estava em tratamento com HU. Os parâmetros hematológicos mostraram uma diminuição significativas dos pacientes em relação ao grupo controle, incluindo contagem de glóbulos vermelhos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média, leucócitos, monócitos, linfócitos, bem como reticulócitos e plaquetas. A análise genética revelou uma predominância do alelo C (selvagem) 105 (83,52%) e do genótipo CC 42 (43,6%) nos pacientes e no grupo controle uma presença maior de alelo C 141 (87%) e do genótipo CC 61 (61,4%). O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi verificado para frequências alélicas e genotípicas. Não houve diferenças nas variáveis laboratoriais relacionadas à função renal, hepática e de hemólise e não houve associação com o polimorfismo com as complicações clínicas analisadas, independente do uso de HU. A ausência de diferença também foi observada no grupo de pacientes que não utilizaram HU. Conclui-se que a frequência do gene *IRF8* rs10514611 encontrada foi semelhante entre os pacientes e o grupo controle e que esse polimorfismo não tem impacto nas alterações clínicas e bioquímicas em pacientes com anemia falciforme que fazem o uso de HU, bem como naqueles que não fazem o seu uso.

Palavras-chave: Anemia Falciforme; Fator Regulador de Interferon 8; Polimorfismo de Nucleotídeo único.

ABSTRACT

Sickle cell anemia (SCA) is a genetic disease resulting from a mutation in the β -globin gene, leading to the production of hemoglobin S (HbS) and whose main complication is chronic inflammation. The IRF8 gene is associated with the immune and inflammatory response. This study aimed to determine the frequency of a polymorphism in the IRF8 gene and its relationship with clinical, laboratory parameters, and the use of hydroxyurea (HU). This was a cross-sectional, quantitative, and analytical study that included 63 patients with sickle cell anemia and 81 blood donors as a control group. Information was collected from patients' medical records, such as sociodemographic (age and sex), laboratory (complete blood count, urea, creatinine, AST, ALT, GGT, lactate dehydrogenase, reticulocyte count, serum iron, ferritin, transferrin saturation index, and iron binding capacity), and clinical complications (stroke, renal insufficiency, acute chest syndrome, leg ulcers, cholelithiasis, cholecystitis, and heart disease). The polymorphism in the IRF8 gene rs10514611 was identified using TaqMan® probes and real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). Significant results were defined as $p < 0.05$. Most patients were female 40 (65.6%), and the majority of them 49 (86.7%) were undergoing HU treatment. Hematological parameters showed a significant decrease in patients compared to the control group, including red blood cell count, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, white blood cells, monocytes, lymphocytes, as well as reticulocytes and platelets. Genetic analysis revealed a predominance of the C allele (wild type) 105 (83.52%) and the CC genotype 42 (43.6%) in patients, and a higher presence of the C allele 141 (87%) and the CC genotype 61 (61.4%) in the control group. Hardy-Weinberg equilibrium was verified for allelic and genotypic frequencies. There were no differences in laboratory variables related to renal, hepatic function, and hemolysis, and no association with the polymorphism was found with the analyzed clinical complications, regardless of HU use. The absence of difference was also observed in the group of patients who did not use HU. It is concluded that the frequency of the IRF8 gene rs10514611 found was similar between patients and the control group and that this polymorphism does not impact clinical and biochemical alterations in patients with sickle cell anemia who use HU, as well as those who do not use it.

Keywords: sickle cell anemia; interferon regulatory factor; polymorphism, single nucleotide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Mutação no gene da β -globina e processo de falcização.....	14
Figura 2	– Distribuição global de recém nascidos com Anemia Falciforme.....	15
Figura 3	– Alteração da forma da hemácia gerando vaso-oclusão nos capilares.....	16
Figura 4	– Polimorfismo do gene <i>IRF8</i> (rs 10514611) em que há a troca C>T.....	23
Figura 5	– Fluxograma de delineamento de estudo.....	27
Figura 6	– Gráficos de amplificação e detecção de DNA.....	31
Figura 7	– Gráfico ternário com a distribuição genotípica das populações estudadas.....	35
Figura 8	– Biomarcadores de função renal, hepática e de hemólise em pacientes com AF que fazem uso de HU.....	36
Figura 9	– Biomarcadores de função hepática, renal e de hemólise em pacientes com AF que não fazem uso de HU.....	38
Figura 10	– Ferro sérico, ferritina, Índice de Saturação da Transferrina e Capacidade Total de Ligação do Ferro em pacientes com AF que fazem o uso de HU.....	32
Figura 11	– Ferro sérico, ferritina, Índice de Saturação da Transferrina e Capacidade Total de Ligação do Ferro em pacientes com AF que não fazem o uso de HU.....	32

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Variáveis sociodemográficas, clínicas e laboratoriais analisadas em pacientes com AF no estudo.....	29
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características demográficas e parâmetros hematológicos de pacientes com AF e grupo controle.....	33
Tabela 2 – Relação do uso de HU com percentuais de HbS e HbF.....	34
Tabela 3 – Frequência de alelos C (selvagem) e T (polimorfo) e de genótipos em pacientes com AF e grupo controle.....	34
Tabela 4 – Parâmetros hematológicos de pacientes com AF em uso de HU com gene <i>IRF8</i> Selvagens e Polimorfos.....	35
Tabela 5 – Parâmetros hematológicos de pacientes com AF que não fazem o uso de HU com gene <i>IRF8</i> Selvagens e Polimorfos.....	36
Tabela 6 – Associação do histórico das complicações clínicas na AF com a presença de polimorfismo no gene <i>IRF8</i> (rs10514611)	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Anemia Falciforme
AVC	Acidente Vascular Cerebral
DNA	Ácido desoxiribonucleico
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
FAP	Fator Agregador de Plaquetas
FvW	Fator de Von-Willenbrand
HbA	Hemoglobina A
HbA2	Hemoglobina A2
HbC	Hemoglobina C
HbD	Hemoglobina D
HbF	Hemoglobina Fetal
HbS	Hemoglobina S
HEMOCE	Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará
HU	Hidroxiureia
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular
IRF	Fator Regulador de Interferon
LACT	Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas
NO	Óxido Nítrico
qPCR	Reação da Cadeia Polimerase em tempo real
STA	Síndrome Torácica Aguda
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFC	Universidade Federal do Ceará
VCAM-1	Molécula de Adesão Celular Vascular
VOC	Crises de vaso-oclusão

LISTA DE SÍMBOLOS

μL	Microlitro
%	Porcentagem
®	Marca Registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Anemia Falciforme.....	14
1.2	Epidemiologia.....	15
1.3	Fisiopatologia da Anemia Falciforme.....	16
1.3.1	<i>Polimerização da Hemoglobina S.....</i>	16
1.3.2	<i>Crises Vaso-oclusivas.....</i>	16
1.3.3	<i>Complicações clínicas.....</i>	18
1.3.3.1	<i>Acidente Vascular Cerebral.....</i>	18
1.3.3.2	<i>Insuficiência Renal.....</i>	18
1.3.3.3	<i>Síndrome Torácica Aguda.....</i>	19
1.3.3.4	<i>Úlceras de membros superiores.....</i>	19
1.3.3.5	<i>Colelitíase e Colecistite.....</i>	20
1.4	Tratamento.....	20
1.5	Fatores reguladores de Interferon.....	21
1.5.1	<i>Fator Regulador de Interferon 8.....</i>	22
1.5.2	<i>Polimorfismo de Nucleotídeo único do IRF8 (rs10514611)</i>	22
2	OBJETIVOS	25
2.1	Objetivo Geral	25
2.2	Objetivos Específicos	25
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1	Aspectos éticos	26
3.2	Desenho do estudo.....	26
3.3	Local do estudo.....	26
3.4	Casuística.....	26
3.5	Seleção de amostra.....	28
3.5.1	<i>Crítérios de inclusão.....</i>	28
3.5.2	<i>Crítérios de exclusão.....</i>	28
3.6	Estratificação dos grupos.....	28
3.7	Coletas de dados e amostras.....	29
3.8	Extração de DNA.....	30
3.9	Determinação do polimorfismo do IRF8.....	31

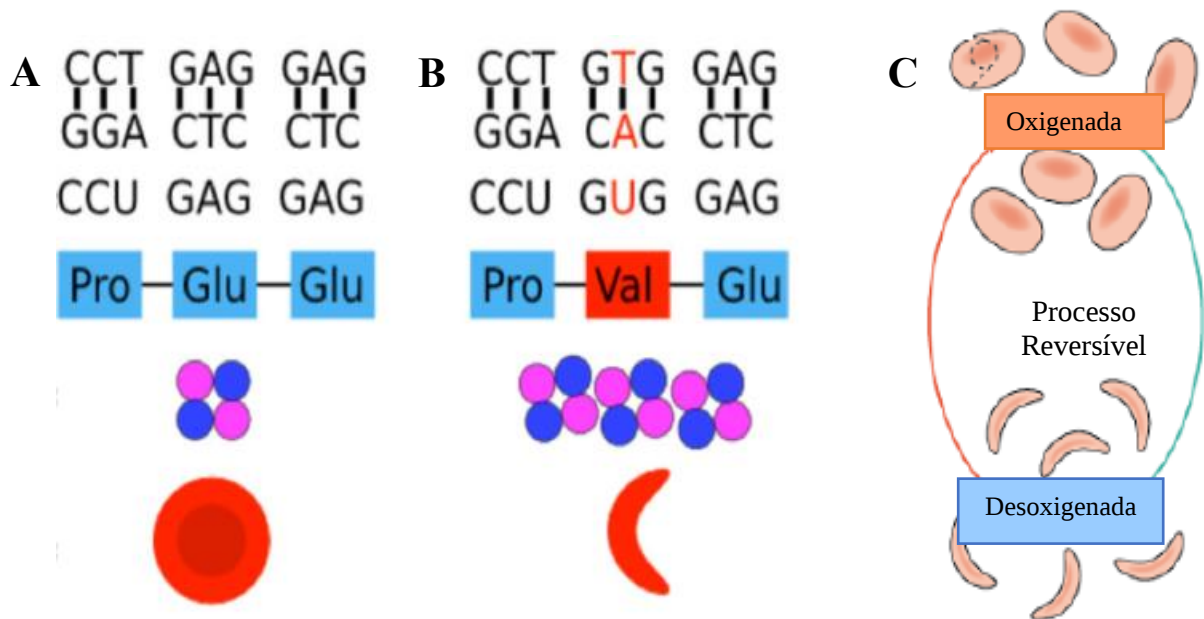
3.10	Análise Estatística.....	32
4	RESULTADOS	33
5	DISCUSSÃO.....	42
6	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48
	APÊNDICE A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	53
	APÊNDICE B – TCLE.....	57

1 INTRODUÇÃO

1.1 Anemia Falciforme

A anemia falciforme (AF) é uma doença genética autossômica recessiva causada pela homozigose do alelo beta-S (β^S) (localizado no cromossomo 11p15.5), que difere do alelo β do tipo selvagem por um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) Rs334(T;T) no qual GTG é substituído por GAG no sexto códon do gene da β -globina. Isto leva à substituição de um resíduo hidrofílico de ácido glutâmico (Glu) por um resíduo hidrofóbico de valina (Val) na sexta posição na cadeia β -globina, resultando em um tetrâmero de hemoglobina mutado HbS (Figura 1) (Sundd; Gladwin; Novelli, 2019).

Figura 1 – Mutação no gene da β -globina e processo de falcização.



Fonte: Adaptado de Kato *et al.* (2018) e https://medcell.org/tbl/microangiopathy_sickle_cell/reading.php

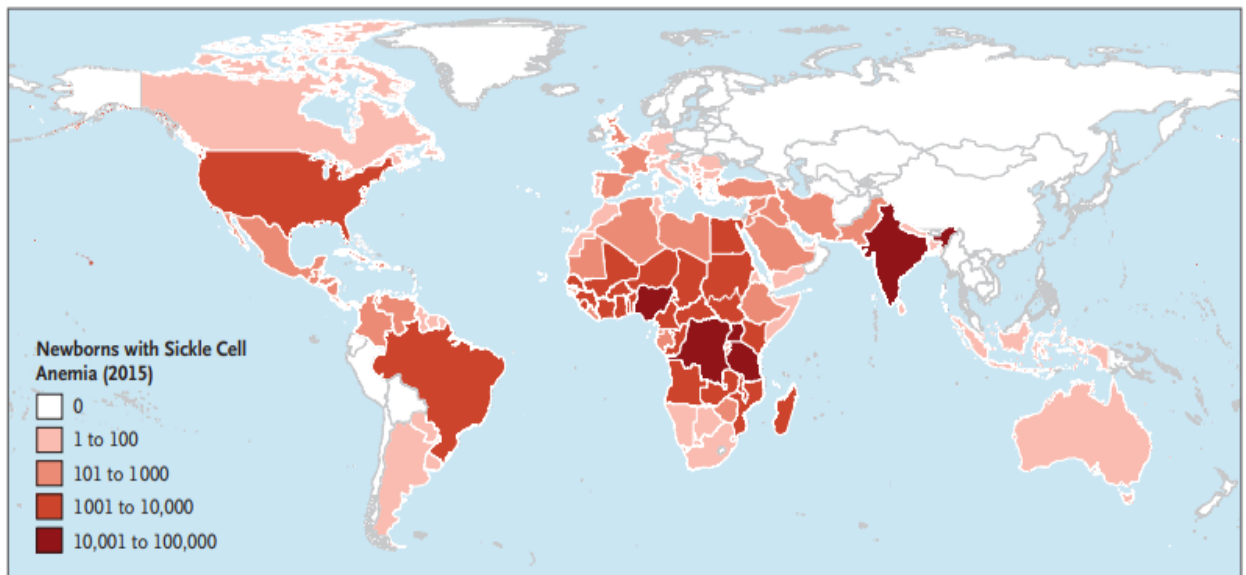
Legenda: A: Ausência de mutação no gene da β -globina e conformação normal da hemácia. B: Troca do aminoácido Ácido Glutâmico pela Valina causando a polimerização da Hemoglobina e falcização da hemácia. C: Processo reversível de falcização da hemácia que, quando na presença de oxigênio apresenta conformação normal, já quando em hipóxia, ocorre a falcização.

1.2 Epidemiologia

A incidência das doenças falciformes varia de acordo com diversas variáveis, dentre elas estado, raça e etnia. Há locais em que, devido ao histórico de doenças de origem africana, reconhecimento como predominante na população negra e parda (Galiza Neto; Pitombeira, 2003; Kato *et al.*, 2018).

De fato, segundo dados da OMS, estima-se que na África nasçam cerca de 270 mil crianças por ano com algum tipo de hemoglobinopatia associada à presença de HbS. Entre os afro-americanos, cerca de 1 a cada 360 bebês recém-nascidos tem doença falciforme e 1 a cada 600 nascidos apresentam AF (Figura 2) (Kato, 2018).

Figura 2 – Distribuição global de recém-nascidos com Anemia Falciforme



Fonte: Adaptado de Piel, Steiberg, Rees, 2017. Legenda: Mapa da estimativa do número de recém nascidos com anemia falciforme por 100.000 nascidos por país em 2015.

No Brasil, em virtude da vinda histórica de afrodescendentes para o Brasil e da consequente miscigenação oriunda desse processo, apresenta elevados números de pessoas com AF. cerca de 8% da população negra foi diagnosticada com a AF. No entanto, essa distribuição ocorre de forma heterogênea, sendo mais frequente em estados onde a proporção de afrodescendentes é maior, como os da região Nordeste, sobretudo, a Bahia (Cidadania, 2022; Kato *et al.* 2018).

1.3 Fisiopatologia da Anemia Falciforme

1.3.1 Polimerização da Hemoglobina S

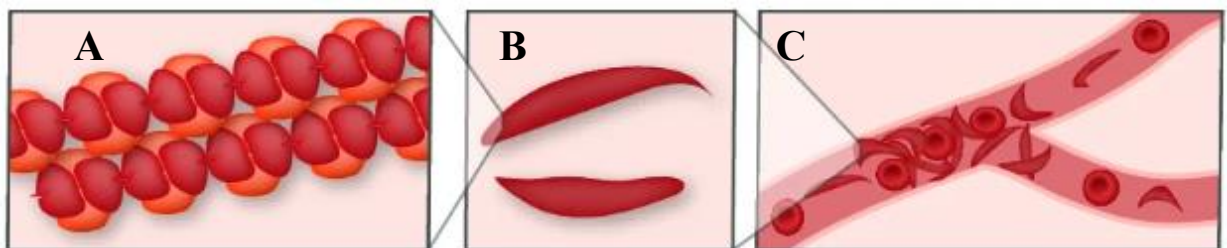
As moléculas de HbS, quando em hipóxia, tornam-se insolúveis e sofrem polimerização. Essas moléculas, ligam-se umas às outras de modo a ocultar as suas regiões hidrofóbicas, deixando-as mais ou menos paralelas entre si, o que resulta na transformação da célula para uma forma alongada conhecida como hemácia em foice. Se a hemoglobina for novamente oxigenada, a falcização não ocorrerá, pois o ambiente oxigenado restaura a conformação original da hemoglobina. Apenas a HbS desoxigenada é suscetível à polimerização. Esse processo é o evento primordial na origem da AF (Fitzsimmons; Amim; Uversky, 2016).

A transformação dos eritrócitos de forma discoide para a forma falcizada resulta na modificação da funcionalidade da bomba de sódio e potássio. Isso, por sua vez, leva à perda de potássio e água, resultando em hemácias mais compactadas e propicia a acumulação de HbS. Além disso, esse processo causa um acúmulo intracelular de cálcio, pois diminui a atividade da bomba de cálcio/ATPase e provoca um aumento na concentração de hemoglobina corpuscular média, o que por sua vez, reduz a permeabilidade celular (Souza, 2016).

1.3.2 Crises vaso-oclusivas

As crises vaso-oclusivas implicam em inflamação e obstrução vascular, favorecendo a ocorrência de lesões que caracterizam o quadro clínico da AF. Esse quadro não tem relação direta com a baixa de hemoglobina, mas sim com a polimerização da variante genética da hemoglobina humana (HbS) (Figura 3) (Mandal; Mitra; Das, 2020).

Figura 3 – Alteração da forma da hemácia gerando vaso-oclusão nos capilares sanguíneos.



Fonte: Adaptado de <https://learn.genetics.utah.edu/content/genetics/hemoglobin> Legenda: A polimerização da hemoglobina em A, ocasiona no processo de falcização da hemácia em B que, por sua vez, leva à oclusão dos microcapilares em C.

O paciente com AF tem a dor constantemente presente ao longo de todo o curso da doença, o que o leva a internações ao longo da vida. Essa crise aguda de dor, também conhecida como crise álgica, é responsável pela maioria dos casos que necessitam de atendimento de emergência e hospitalização, o que afeta não apenas a qualidade de vida, mas resulta em uma taxa de internação frequente (Santos, 2014).

As crises álgicas são consequências diretas da inflamação na AF o que gera as crises vaso-oclusivas (VOC's). Estas se tratam de um processo complexo que envolve uma alta variedade de citocinas, em que todas as linhagens das células sanguíneas estão envolvidas, sobretudo os leucócitos, além da influência do próprio endotélio vascular.

Na superfície dos eritrócitos existem receptores ligados à membrana que podem interagir com moléculas de adesão presentes no endotélio vascular. Dessa forma, as células falciformes apresentam uma grande facilidade em se ligar a essas moléculas, tais como Molécula de Adesão Intercelular (ICAM-1) e Molécula de Adesão Celular Vascular (VCAM-1). Essa interação promove ainda mais a adesão desses eritrócitos ao endotélio (Conrad, 2009).

Quanto aos leucócitos, em sua forma ativa, possuem um papel fundamental nas VOC's e no processo inflamatório crônico. Por serem mais rígidos que as hemácias, os leucócitos (sobretudo os neutrófilos) se tornam pouco deformáveis trazendo uma facilidade em se ligar ao endotélio e mediando a adesão dos eritrócitos circulantes às paredes dos vasos. Trata-se de um processo em cascata, já que essa adesão envolve integrinas, selectinas e até interação com as células falcizadas (Lum *et al.*, 2004).

Além disso, estudos têm demonstrado que na AF há um constante estado de hipercoagulação nas quais parecem estar relacionados com as alterações de membrana das hemácias (Stypulkowski; Manfredini, 2010). Há evidências que a ativação da coagulação está ligada à hemólise na AF o que leva a um possível desenvolvimento de acidente vascular cerebral (AVC). Essa hipercoagulação pode ser evidenciada pelo aumento de marcadores de ativação de trombina, tais como D-Dímero, Fator ativador de plaquetas (FAP), Fator de Von Willebrand (FvW), entre outras moléculas (Zhou; Behymer; Guchhait, 2011).

Portanto, diversos mecanismos estão associados às VOC's, a saber, disfunção endotelial, inflamação, hipercoagulabilidade, hipoxemia, entre outros e pode acometer órgãos vitais, como pulmão, coração e rins. Há ainda os eventos mais graves: síndrome torácica aguda, insuficiência renal, AVC, priapismo, infecção recorrente e hipertensão pulmonar (Hanneman *et al.*, 2011).

1.3.3 Complicações clínicas

1.3.3.1 AVC

Dentre as inúmeras repercussões sistêmicas observadas no curso da AF, o AVC corresponde a uma das mais graves. Na faixa etária entre 35-64 anos, a incidência de AVC, independente de isquêmico ou hemorrágico, é 2,74 vezes maior do que a incidência observada em afro-americanos. Os AVC(s) são muito frequentes em portadores de AF e consequentemente respondem por uma causa elevada de morbimortalidade. Cerca de 11% de pacientes com idade de 20 anos já foram vítimas de algum evento cerebrovascular e esta proporção eleva-se para 24% por volta dos 45 anos. Nota-se uma diferença entre os tipos de AVC e a faixa etária. O AVC isquêmico predomina em crianças e o hemorrágico em adultos (Santos *et al.*, 2019).

O AVC na AF não é originado por uma causa embólica, mas sim decorre de uma modificação no fluxo arterial relacionada ao estreitamento progressivo dos vasos. Consequentemente, a suspeita de um AVC em indivíduos com AF é mais elevada em comparação com a população em geral, uma vez que esses pacientes apresentam um risco aumentado para essa emergência (Conte *et al.*, 2023).

1.3.3.2 Insuficiência Renal

Na população com AF, a medula renal representa um local altamente suscetível à polimerização da hemoglobina S. Esse fenômeno é agravado pelas baixas concentrações locais de oxigênio, assim como pela hipertonicidade e baixo pH do ambiente. A consequente falcização das hemácias leva à vaso-oclusão nos vasa recta, resultando em uma circulação sanguínea deficiente, isquemia e infarto das células tubulares (Lima, 2015).

O desfecho desse processo é a quase total perda dos vasa recta, com os poucos vasos sanguíneos medulares remanescentes apresentando dilatação acentuada e assumindo uma configuração espiralada. Esse cenário ilustra a complexidade dos efeitos da hemoglobina S na microcirculação renal, destacando a importância de compreender os mecanismos envolvidos na fisiopatologia da doença falciforme (Alhwiesh, 2014).

A anemia falciforme, como uma doença multisistêmica, implica que suas complicações podem afetar vários órgãos, incluindo os rins. Estima-se que aproximadamente 16% a 18% da mortalidade global na AF esteja relacionada a complicações renais. (Nath; Hebbel, 2015).

1.3.3.3 Síndrome Torácica Aguda

A síndrome torácica aguda (STA) é uma causa comum de mortalidade e morbidade entre pacientes com AF. Apenas as VOC's são maiores causas de internações hospitalares nesses pacientes quando comparados à STA. A SCA é definida como uma nova infiltração pulmonar na radiografia de tórax em conjunto com febre ou sintomas respiratórios (Yousef *et al.*, 2022).

Há muitos fatores que estão ligados à lesão pulmonar, tais como infecção, embolia gordurosa pulmonar, infarto pulmonar e embolia pulmonar. A presença de doença pulmonar broncorreativa subjacente, muitas vezes não detectada, pode aumentar a frequência e a gravidade dos eventos de síndrome torácica aguda (Borborema *et al.*, 2023).

1.3.3.4 Úlcera de Membros Inferiores

A patogênese das úlceras de membros inferiores é intrincada e, embora sua causa exata permaneça incerta, há um consenso de que é um fenômeno multifatorial. Diversas teorias buscam explicar esse processo, incluindo vaso-oclusão, hemólise, hipercoagulabilidade, trombose, disfunção autonômica, fatores genéticos e incompetência venosa. Notavelmente, a última pode ser alvo de intervenção por meio de terapias de compressão (Borges *et al.*, 2020).

Essas úlceras de membros inferiores podem se manifestar de maneira traumática ou espontânea, sendo que metade dos casos está associada a lesões traumáticas, enquanto as formas espontâneas surgem na derme. O processo de cicatrização é lento, podendo demandar meses ou anos. A inevitável infecção bacteriana secundária é frequentemente causada por *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus pyogenes*. A cicatriz resultante exibe baixa resistência à tração e má perfusão devido à vasculopatia cutânea, aumentando a propensão à reabertura. Esses desafios adicionais ressaltam a complexidade no manejo e tratamento dessas úlceras em pacientes com AF (Granja *et al.*, 2020). O local mais comum é o maléolo lateral. Locais menos comuns incluem a área anterior da tíbia, o dorso do pé e o tendão de Aquiles. (Onimoe; Rotz, 2020).

Evidências indicam que indivíduos portadores de AF e que apresentam úlceras nas pernas também podem enfrentar um risco aumentado de desenvolver outras complicações mais graves da doença, incluindo hipertensão pulmonar, priapismo e, potencialmente, insuficiência renal. (Minniti *et al.*, 2010).

1.3.3.5 Colelitíase e Colecistite

A colelitíase refere-se à presença de cálculos nas vias biliares, frequentemente encontrados na vesícula biliar (colecistolitíase). A hemólise desempenha um papel central na etiologia da colelitíase em crianças e adolescentes com AF. A formação de cálculos biliares pigmentados ocorre devido à destruição precoce dos eritrócitos falcizados, resultando no acúmulo de seus precursores e na precipitação dos sais biliares, especialmente o bilirrubinato de cálcio. Esse processo está associado a uma condição crônica de hiperbilirrubinemia indireta (Froed *et al*, 2012; Silva *et al.*, 2023).

Os principais elementos de risco associados ao desenvolvimento de colelitíase em indivíduos com doença falciforme incluem: baixos níveis de hemoglobina fetal, submissão à terapia crônica de transfusão sanguínea, elevação nos níveis séricos de colesterol total, colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c - Low-Density Lipoprotein cholesterol), Colesterol de Lipoproteína de Muito Baixa Densidade (VLDL-c - Very Low-Density Lipoprotein cholesterol), triglicerídeos, ferritina e Alfa-1 Antitripsina (A1AT - Alpha-1 Antitrypsin), assim como a idade avançada, especialmente a partir da terceira década de vida. Contrariamente, foram identificados fatores que exercem efeito protetor, tais como a presença concomitante de alfa-talassemia e a redução no número de reticulócitos. Essas constatações enfatizam a complexidade dos fatores que contribuem para o desenvolvimento de colelitíase em pacientes com doença falciforme e destacam a necessidade de uma abordagem abrangente na compreensão e gestão dessa condição (Nascimento *et al.*, 2022). Metade dos cálculos biliares consiste em bilirrubina cálcica, uma substância radiopaca identificável em radiografias simples. Aos 65 anos, 58% dos pacientes com doença falciforme manifestam colelitíase. Ao contrário da maioria dos indivíduos com cálculos biliares, aqueles com doença falciforme e colelitíase enfrentam um maior risco de complicações, incluindo colecistite, coledocolitíase, colangite ascendente e pancreatite. É crucial distinguir entre uma crise hepática aguda e colecistite aguda (Samuel; Jain, 2023).

1.4 Tratamento

A qualidade de vida do paciente com AF melhorou significativamente a partir do uso da Hidróxiurea (HU). Este medicamento demonstrou ser capaz de diminuir a taxa de óbitos, a porcentagem de VOC's quando comparados a pacientes que não faziam o uso, tempo de internação e síndrome torácica aguda (STA) (Silvia, 2021).

A HU é um quimioterápico, cujo uso tem por objetivo aumentar a produção de HbF inibindo a polimerização intracelular de HbS e, consequentemente, diminuindo a taxa de falcização das hemácias. Somado a isso, a terapia com HU traz outros benefícios de forma multifatorial estendendo-se além da indução de HbF (Ferreira; Gouvêa, 2018; Santos, 2014; McGann, 2015).

A HU pode reduzir o consumo de Óxido Nítrico (NO) intravascular, diminuir a ativação do endotélio com potencial vasodilatação local e melhorar. Também apresenta um efeito na diminuição de neutrófilos e reticulócitos. Está associada de forma indireta a uma minimização da expressão das moléculas de adesão na superfície de leucócitos e hemácias, bem como reduzir o estado inflamatório e de hipercoagulabilidade dos pacientes. (McGann, 2015).

A única opção de cura para AF se dá pelo transplante de células tronco hematopoiéticas. No entanto, o limitado número de doadores compatíveis impede sua ampla utilização e, mesmo quando se encontra compatibilidade, ainda há a chance de rejeição (Ferreira; Gouvêa, 2018).

1.5 Fatores Reguladores de Interferon

Os fatores reguladores de Interferon (IRF's) foram inicialmente caracterizados como genes que controlam a transcrição de Interferons do tipo I e genes induzidos por interferon. Hoje se sabe que essa família desempenha um papel fundamental na regulação tanto da imunidade inata quanto da adaptativa (Tamura *et al.*, 2008).

Os IRF's interagem entre si e com outras famílias de fatores de transcrição. Trata-se de uma família formada por nove membros humanos e de camundongos. Muitos IRF's (*IRF1*, *IRF3*, *IRF4*, *IRF5*, *IRF7* e *IRF8*) estão envolvidos nas respostas imunes inatas provocadas por receptores de reconhecimento de padrões (PRR's), além da compreensão do papel dos IRF's (*IRF1*, *IRF2*, *IRF4* e *IRF8*) no desenvolvimento de várias células do sistema imune (Tamura *et al.*, 2008).

Alguns IRF's são ativados diretamente em resposta a estímulos de antígenos ou em decorrência de estímulos de proliferação, e o Interferon (INF) desempenha um papel significativo como indutor desses genes *IRF's*. (Nehyna, 2002). Existem dois tipos de INF. Os INF do tipo I são produzidos por uma variedade de células após a infecção viral enquanto os do tipo II são produzidos por linfócitos T ativados e células natural killer (NK) (Taniguchi, 2001).

Assim como várias outras citocinas, esses dois tipos de INF demonstram diversas atividades biológicas, sendo que ambos frequentemente desencadeiam uma resposta antiviral em suas células-alvo ou estimular receptores semelhantes (Taniguchi, 2001).

1.5.1 Fator Regulador de Interferon 8

O *IRF8* é um integrante crucial da família dos *IRFs* e apresenta expressão seletiva em células mieloides e células B. Além disso, ele desempenha um papel crítico na maturação de monócitos e polarização de macrófagos para o tipo M1 (pró-inflamatório) (Chistiakov, 2018).

Uma vez que os progenitores mieloides dão origem a granulócitos e macrófagos, estas observações indicam um papel do *IRF8* na seleção da linhagem de progenitores mieloides. Curiosamente, o *IRF8* promove a diferenciação de macrófagos enquanto inibe o desenvolvimento de granulócitos (Battistini, 2009). O *IRF8* é restrito a células do sistema imune, inclusive linfócitos B e T, DC e macrófagos em resposta ao INF. A superexpressão de *IRF8* impulsiona a diferenciação de células promieloide em macrófagos (Battistini, 2009).

A produção de IFN pode ser amplificada e potencializada em um ciclo de feedback positivo através da expressão aumentada de genes estimulados por IFN, incluindo IRFs, em particular IRF-1, -7 e -8 (Honda; Taniguchi, 2006).

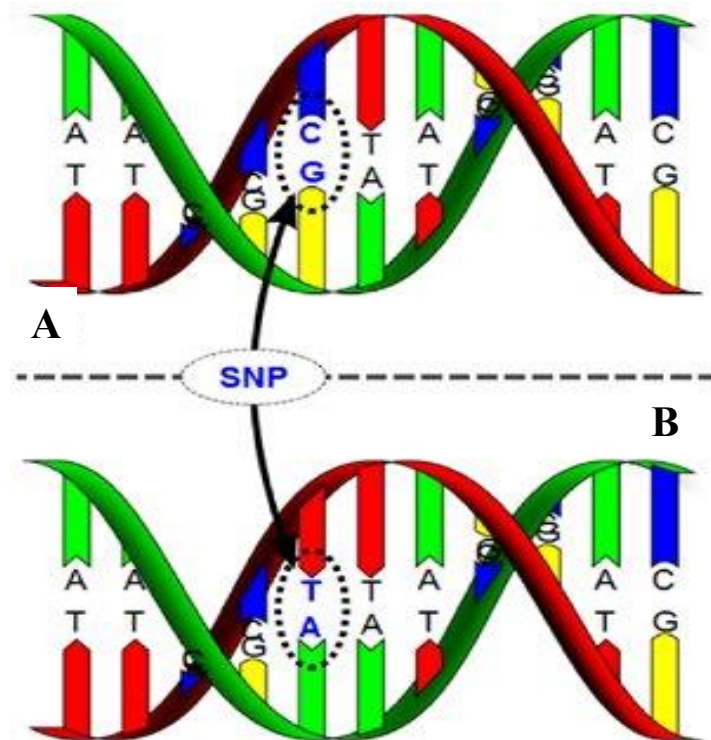
1.5.2 Polimorfismo de Nucleotídeo único do IRF8 (rs10514611)

Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP - Single Nucleotide Polymorphism) representam uma forma amplamente prevalente de variação genética em sequências de DNA. Nesse tipo de variação genética, uma única base nucleotídica é substituída em uma sequência de DNA (Reis *et al.*, 2016).

O polimorfismo do *IR8* rs10514611 (C>T) (Figura 4), situado no cromossomo 16, tem sido objeto de estudos e já foi documentada em literatura uma razão de chance maior em relação ao desenvolvimento de condições clínicas significativas. Pesquisas anteriores destacaram sua associação com a leucemia mieloide crônica, sugerindo um possível papel desse polimorfismo na predisposição ou na progressão dessa neoplasia hematológica. Além disso, há evidências que apontam para uma correlação entre o mesmo polimorfismo e a suscetibilidade à tuberculose, indicando que variações nessa região genética podem influenciar a resposta imunológica a determinadas infecções. Essas descobertas ressaltam a importância de investigações mais aprofundadas para elucidar os mecanismos pelos quais o polimorfismo do

IRF8 rs10514611 pode influenciar diferentes condições patológicas, contribuindo assim para avanços no entendimento da genética associada a doenças complexas (Dzikiewicz-Krawczyk, 2014; Ding, 2012).

Figura 4 – Polimorfismo do gene *IRF8* (rs 10514611) em que há a troca C>T.



Fonte: Adaptado de Pallarés; Guitart; Vila, 2013. Legenda: A: O alelo selvagem apresentando a base nucleotídica C e sua correspondente G. B: a presença do polimorfismo no qual há a substituição de apenas uma base nucleotídica, no caso, a C pela T.

O *IRF8* desempenha um papel crucial na regulação da resposta inflamatória do sistema imunológico, influenciando a expressão de genes envolvidos na produção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. Zhao *et al.* (2006) mostraram que camundongos deficientes em *IRF8* são altamente suscetíveis a vários patógenos, incluindo *Listeria monocytogenes* e vírus da coriomeningite linfocítica, devido a defeitos na imunidade inata e adaptativa. O autor demonstrou que a perda da ligação do *IRF8* a um local do elemento de resposta estimulado por IFN na região promotora da IL-12 em macrófagos deficientes em *IRF8* resulta num defeito na produção de IL-12 e que macrófagos de camundongos *IRF-8*^{-/-} não produzem IL-12 em resposta a IFN- γ e LPS. Além disso, já está documentado em literatura uma razão de chance maior de polimorfismo do gene *IRF8* rs10514611 envolvido no desenvolvimento da leucemia mieloide crônica (Ding, 2012).

Como o *IRF8* está intrinsecamente ligado à resposta inflamatória, são necessários estudos que avaliem a possível influência desse polimorfismo do *IRF8* com o grau de heterogeneidade clínica assim como com as variações nos processos inflamatórios, mesmo no estado basal, nos pacientes com a AF. Dessa forma, o presente estudo contribui com os demais trabalhos realizados pelo grupo, com relação à avaliação da modulação dos polimorfismos dos genes da família do *IRF* na doença e se mostra relevante, uma vez que não há, até o presente momento, estudos com esse polimorfismo (rs10514611) na AF.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar a frequência de um polimorfismo no gene *IRF8* (rs10514611) e associar com complicações clínicas, exames laboratoriais e com o uso de HU de pacientes com AF.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil sociodemográfico dos pacientes com AF;
- Determinar a frequência alélica e genotípica de polimorfismo do Gene *IRF8* (rs10514611) em pacientes com AF e grupo controle;
- Relacionar a presença de polimorfismo de gene *IRF8* (rs10514611) com parâmetros hematológicos, biomarcadores de função renal (ureia e creatinina), função hepática (transaminase oxalacética (TGO), transaminase pirúvica (TGP), gama glutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina), marcadores de hemólise (lactato desidrogenase (LDH) e contagem de reticulócitos) e biomarcadores de metabolismo do ferro (ferro sérico e capacidade latente de ligação);
- Associar a presença do polimorfismo do Gene *IRF8* (rs10514611) com as complicações clínicas de pacientes com AF nos últimos dez anos: AVC, Insuficiência renal, STA e Úlcera de membros inferiores, colelitíase e colecistite e com o uso de hidróxiureia.

3 MÉTODOS

3.1 Aspectos Éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) com o número de protocolo 6.185.474 (Apêndice A). O trabalho foi executado segundo os princípios e normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos do conselho nacional de saúde – Ministério da Saúde, Resolução nº 466/2012.

3.2 Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo do tipo transversal descritivo, analítico com abordagem quantitativa realizado de março de 2022 a fevereiro de 2024.

3.3 Local do estudo

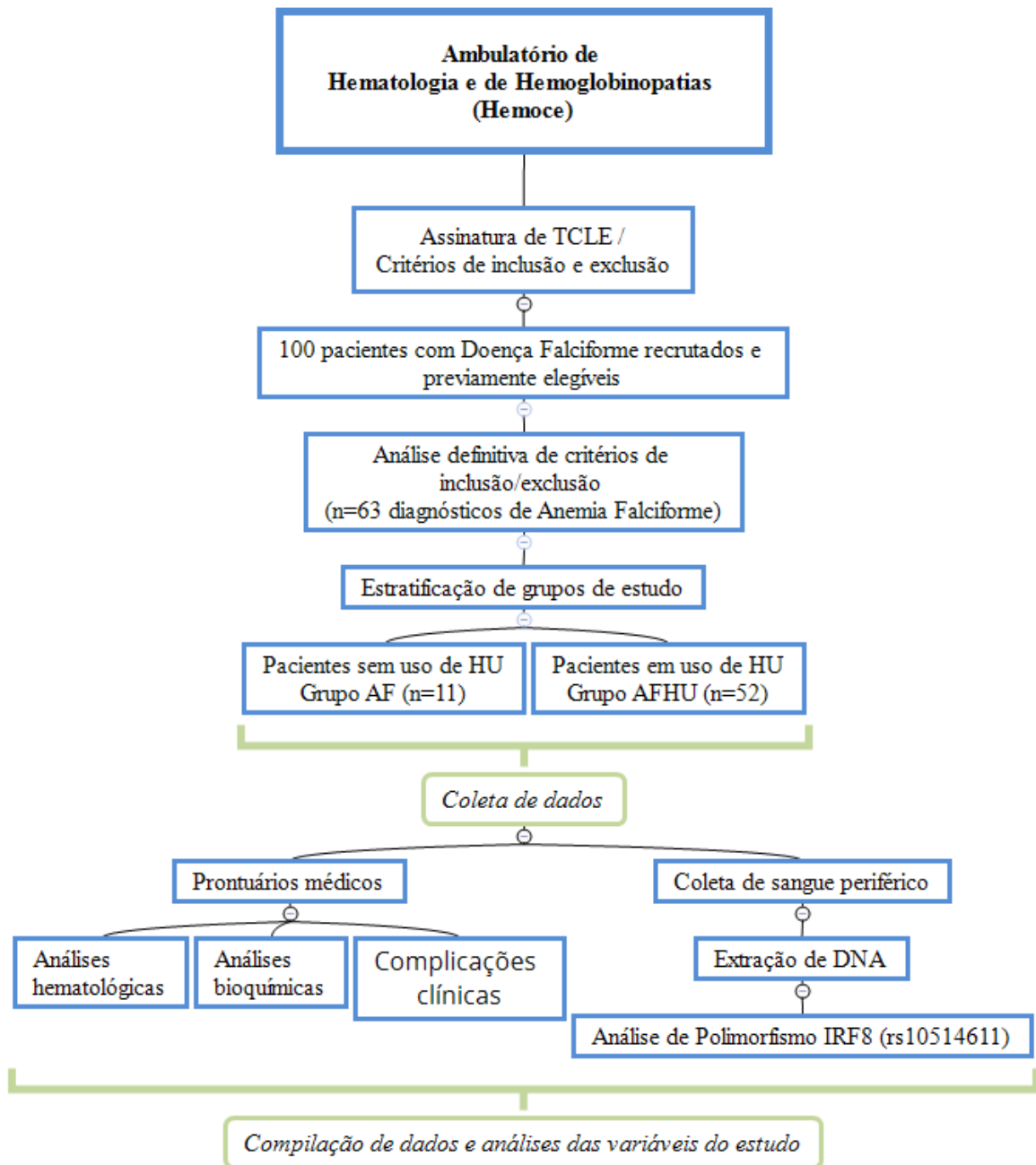
A coleta das amostras de sangue dos pacientes com AF foi realizado no laboratório do HEMOCE, no período de setembro de 2022 a junho de 2023. A coleta dos dados dos prontuários foi realizada no ambulatório de hemoglobinopatias do HEMOCE no mesmo período. Os hemogramas do grupo controle, bem como a análise dos polimorfismos do Gene do *IRF8* foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

3.4 Casuística

Do estudo participaram 63 pacientes com AF, independente do uso de HU, de ambos os sexos, selecionados de acordo com os critérios adotados para tal. Como grupo controle foram utilizadas amostras de 81 doadores de sangue (HbAA) do HEMOCE.

Quanto ao uso de HU, os pacientes foram estratificados nos grupos em uso (SSHU) e sem uso (HU). Quanto ao polimorfismo do gene *IRF8*, os pacientes e controles foram divididos em CC, CT e TT (Figura 5).

Figura 5 – Fluxograma de delineamento do estudo



Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.5 Seleção de amostra

3.5.1 Critérios de inclusão

- Pacientes com AF:

Indivíduos adultos (maiores de 18 anos), de ambos os sexos com diagnóstico de AF (HbSS) em estado basal da doença conforme critérios estabelecidos por Ballas (2012): ausências de crises dolorosas por quatro semanas consecutivas, sem admissão hospitalar nos últimos 3 dias, ausência de transfusões nos últimos 4 meses.

- Grupo controle:

Indivíduos adultos (maiores de 18 anos), doadores de sangue no hemocentro que faz parte do estudo, aparentemente saudáveis, de ambos os sexos, não obesos, não fumantes, que não fizeram consumo habitual de bebida alcoólica ou fármacos, que apresentarem parâmetros hematológicos dentro dos valores referenciais, sem evidências de processo infeccioso e/ou inflamatório há pelo menos três meses e sem alteração do perfil eletroforético de hemoglobina (AA).

3.5.2 Critérios de exclusão

- Pacientes com AF:

Pacientes cujos prontuários dispuseram de informações incompletas, quanto ao tratamento ou ao acompanhamento clínico.

- Grupo controle:

Indivíduos que não concordaram em participar do estudo ou não assinaram o TCLE.

3.6 Estratificação dos grupos

- Pacientes com AF:

Os pacientes com AF (n=63) foram selecionados de forma aleatória, por conveniência, mediante abordagem no ato da coleta de sangue, respeitando sexo, idade,

esquema terapêutico e quadro clínico. Em seguida, foram estratificados em dois grupos, de acordo ou não com o uso ou não da HU no tratamento:

- Grupo AF: formado por 11 (17,46%) pacientes com AF, sem uso de HU.

- Grupo AFHU: formado por 52 (82,53%) pacientes com AF em tratamento com a HU. Ao grupo em uso de HU, foram considerados que faziam uso do medicamento por período ≥ 12 meses, de forma regular e contínua.

- *Grupo controle:*

O grupo controle (Grupo AA), formado por indivíduos saudáveis, foi composto por 81 voluntários, selecionados de forma aleatória dentre os doadores de sangue do hemocentro, desde que obedecidos os critérios de inclusão, próprios para este grupo.

3.7 Coletas de dados e amostras

As informações sociodemográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes com AF foram obtidas dos prontuários médicos presentes no ambulatório do HEMOCE (quadro 1). Foi avaliado o histórico clínico dos pacientes nos últimos dez anos (2014 a 2016).

Quadro 1 – Variáveis sociodemográficas, clínicas e laboratoriais analisadas em pacientes com AF no estudo

Sociodemográficas	Laboratoriais	Clínicas
Idade	Hemograma	AVC
Sexo	Ureia	Insuficiência Renal
	Creatinina sérica	STA
	TGO	Úlcera de Membros Inferiores
	TGP	Colelitíase
	Fosfatase alcalina	Colecistite
	Gama GT	
	LDH	
	Contagem de Reticulócitos	
	Ferro sérico	
	Capacidade Latente de Ligação do Ferro	

Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: TGO: Transaminase Glutâmico Oxalacética; TGP: Transaminase Glutâmico Pirúvica; Gama GT: Gama Glutamil Transferase; LDH: Lactato Desidrogenase AVC: Acidente Vascular Cerebral e STA: Síndrome Torácica Aguda.

Depois de obtidas as assinaturas do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) dos sujeitos da pesquisa (Apêndice B), as amostras de sangue periférico foram coletadas em dois tubos, sendo um com o anticoagulante Ácido Etilenodiamino Tetra-acético (EDTA) para a realização dos hemogramas dos controles e extração de DNA leucocitário (para determinação de polimorfismo do gene *IRF8*) e o outro sem anticoagulante e com gel separador para a realização de exames sorológicos. Os tubos foram armazenados em *freezer* a -80°C desde o momento da coleta até a análise das amostras.

3.8 Extração de DNA

A extração de DNA do sangue periférico dos indivíduos participantes do estudo foi realizada segundo o seguinte protocolo: a 400 μL de sangue total, foi adicionado 800 μL de SDH e homogeneizado no vórtex. Esse material foi centrifugado a 3500 rpm por 10 minutos (min) a 4°C . O sobrenadante foi descartado, ao pellet restante foram adicionados 250 μL de PBS e 750 μL de trizol e reservado por uma hora a -80°C . Retirado do freezer e descongelado, foram adicionados 200 μL de clorofórmio, agitados no vórtex, mantido a 3 minutos a temperatura ambiente, centrifugado a 4°C por 25 min e 5000 rpm e sobrenadante descartado. Em seguida, a cada tubo, foi adicionada a fase orgânica que continha 500 μL de BER (proporção 0,5mL BEB (4M isotiocianato de guanidina +50 mM citrato de sódio dihidratado (ph 8,5) + 1M Tris-HCL (pH 8,0)) 750 μL Trizol LS inicial). Foi realizada homogeneização por 1 minuto vórtex, incubado por 30 min a 25°C sob agitação constante (agitador de placas) e centrifugado a 5000 rpm durante 15 min a 4°C .

O sobrenadante foi transferido a um novo tubo e a ele adicionado 400 μL de isopropanol, homogeneizado por inversão e incubado a -20°C por 1h. Após essa etapa, realizou-se uma centrifugação a 4°C e 14000 rpm por 30 min. O sobrenadante foi descartado.

Ao pellet restante contendo o DNA extraído, a seguinte etapa foi realizada duas vezes: adicionou-se 100 μL de etanol absoluto gelado, homogeneizado levemente por piparotes, centrifugado a 14000 rpm durante 15 min a 4°C e o sobrenadante descartado.

Após descarte do sobrenadante por inversão do tubo, deixou-se o tubo secar (invertido) por 15 min, em temperatura ambiente, sendo, então, ressuspensionado o precipitado de RNA em água estéril, livre de RNase, perfazendo um volume final de 20 μL .

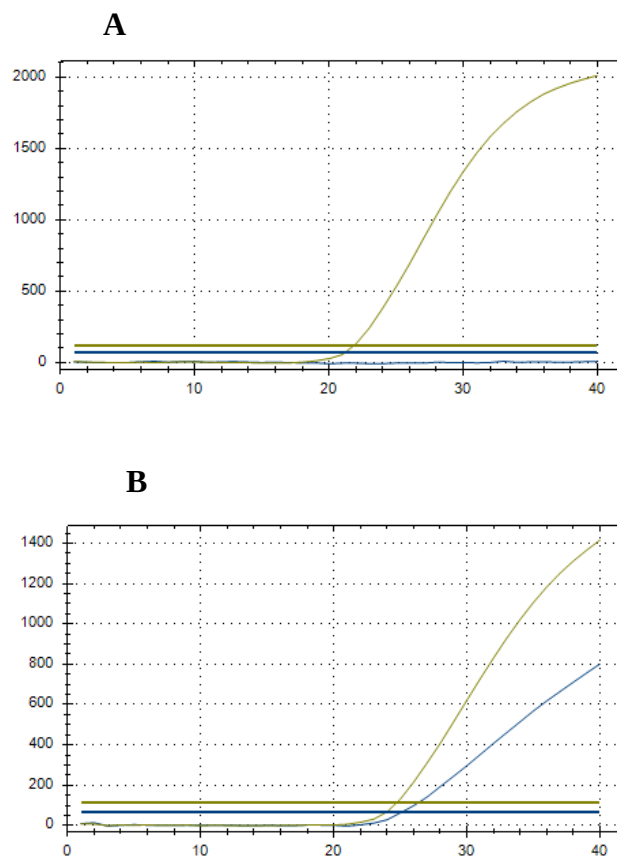
3.9 Determinação do polimorfismo do *IRF8*

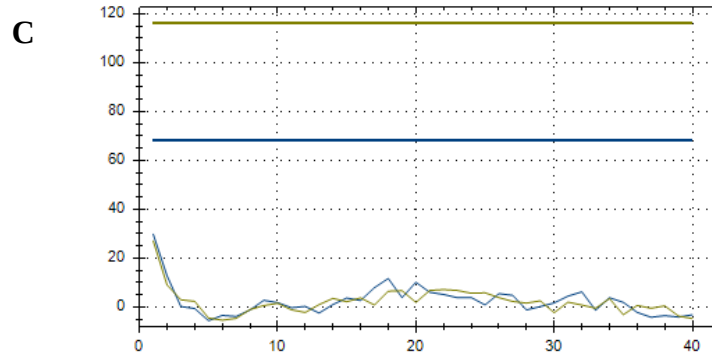
A detecção da amplificação e quantificação do polimorfismo do gene *IRF8* realizados foram realizadas a partir da análise do qPCR, utilizando-se o equipamento CFX96 Real-time System (Bio-Rad Laboratories).

As reações foram preparadas a partir do reagente TaqMan® Universal PCR Master Mix otimizado para reações com sondas TaqMan assay® e contendo a AmpliTaq Gold DNA polimerase, os dNTPs e tampão otimizados. As reações foram realizadas utilizando-se o fluoróforo VIC/FAM. Utilizou-se também amostra de DNA e primers específicos para o gene analisado. A análise do polimorfismo foi realizada por meio da detecção da região rs10514611 no gene *IRF8*, em que o alelo C se caracteriza como o selvagem e o alelo T como polimorfo.

Em todos os casos foram realizados controles negativos, contendo água estéril em substituição à amostra. O processo de amplificação foi realizado por uma ativação prévia da enzima a 95°C por 10 minutos; acrescido de 40 ciclos compreendendo desnaturação do DNA a 92°C por 15 segundos e anelando a extensão a 60°C por 1 minuto. A detecção foi dada em gráficos de fluorescência acima do limite basal estabelecido (Figura 6).

Figura 6 – Gráficos de Amplificação e detecção de DNA





Fonte: Elaborado pelo próprio autor. Legenda: Em A, tem-se apenas a amplificação do gene selvagem marcado com o fluoróforo VIC (verde). Em B, a amplificação observada se deu tanto pelo VIC (verde) quanto pelo FAM (azul). Já o gráfico C mostra a não detecção de ambos os marcadores, já que nenhum passou do Cut-off estabelecido.

3.10 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada mediante a utilização do programa IBM® SPSS® STATISTICS versão 24. Os gráficos foram construídos por meio do programa GraphPad Prism® versão 6. Foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar normalidade dos dados. Para a análise de variância utilizou-se o teste de Levene. As variáveis paramétricas foram analisadas utilizando-se o teste t de Student para amostras não pareadas e as não paramétricas o Teste de Mann-Whitney. Para associação de variáveis categóricas, utilizou-se o qui-quadrado de Pearson.

4 RESULTADOS

A população do estudo foi composta por 63 pacientes com AF com idade variando de 18 a 67 anos, com média de 32,68 anos. Com relação ao sexo, 23 (36,50%) são do sexo masculino e 40 (63,49%) do sexo feminino (Tabela 1).

Tabela 1 – Características demográficas e parâmetros hematológicos de pacientes com AF e grupo controle

	AF (n=63)	AA (n=81)	Valor de p
Masculino/Feminino	23/40	60/21	---
Idade (anos)	32,68 ± 6,3640	33,19 ± 2,1213	0,576
Hemácias (x10 ⁶ /mm ³)	2,51 ± 0,698	4,71 ± 0,532	<0,001
Hemoglobina (g/dL)	9,21 ± 1,483	14,56 ± 1,360	<0,001
Hematócrito (%)	26,39 ± 4,205	41,73 ± 3,884	<0,001
VCM (fL)	105,55 ± 14,522	89,65 ± 4,584	<0,001
HCM (pg)	37,07 ± 5,983	31,35 ± 2,087	<0,001
CHCM (g/dL)	35,10 ± 1,838	35,03 ± 1,222	0,773
Leucócito (x10 ³ /mm ³)	8,68 ± 3,68	7,19 ± 2,080	0,002
Neutrófilo (x10 ³ /mm ³)	4,22 ± 2,310	4,54 ± 2,609	0,452
Linfócito (x10 ³ /mm ³)	3,54 ± 1,446	2,16 ± 0,702	<0,001
Monócito (x10 ³ /mm ³)	0,59 ± 0,588	0,26 ± 0,443	<0,001
Reticulócitos (x10 ⁵ /mm ³)	2,31 ± 0,62	---	---
Plaquetas (x10 ⁵ /mm ³)	3,33 ± 1,459	2,15 ± 0,527	<0,001

Fonte: elaborado pelo autor. Legenda: Os valores foram representados como Média ± desvio padrão. Valor de p obtido usando o teste t não pareado. Significância para p<0,05. AF: pacientes com anemia falciforme, independente do uso de HU. AA: grupo controle.

Observou-se uma diminuição significativa dos pacientes com AF e os indivíduos saudáveis nos parâmetros hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), leucócitos, linfócitos, monócitos e plaquetas.

Analisou-se ainda dentro do grupo dos pacientes com AF, se havia diferença significativa entre os grupos que faziam uso de HU e aqueles que não faziam o uso. Os pacientes que faziam o uso de HU tiveram uma diminuição significante nos níveis de HbS e um aumento também significante quanto a HbF quando comparado ao grupo que não faz uso da HU (Tabela 2).

Tabela 2 – Relação do uso de HU com percentuais de HbS e HbF

	AFHU (n=52)	AF (n=11)	Valor de p*
Nível de HbS (%)	71,77 ± 13,532	85,55 ± 8,013	0,002
Nível de HbF (%)	19,45 ± 12,560	9,19 ± 7,119	0,012

Fonte: elaborada pelo autor. Legenda: *Teste t não pareado.

No que se refere ao polimorfismo do gene *IRF8* (rs10514611), observou-se uma frequência maior do alelo C (selvagem) em relação ao alelo T (polimorfo) tanto no grupo dos pacientes com AF, quanto no grupo controle. Já quanto ao genótipo apresentado, viu-se que havia uma frequência maior do CC em relação ao CT e ao TT. O mesmo padrão se observou para o grupo controle (Tabela 3).

Tabela 3 – Frequência de alelos C (selvagem) e T (polimorfo) e de genótipos em pacientes com AF e grupo controle.

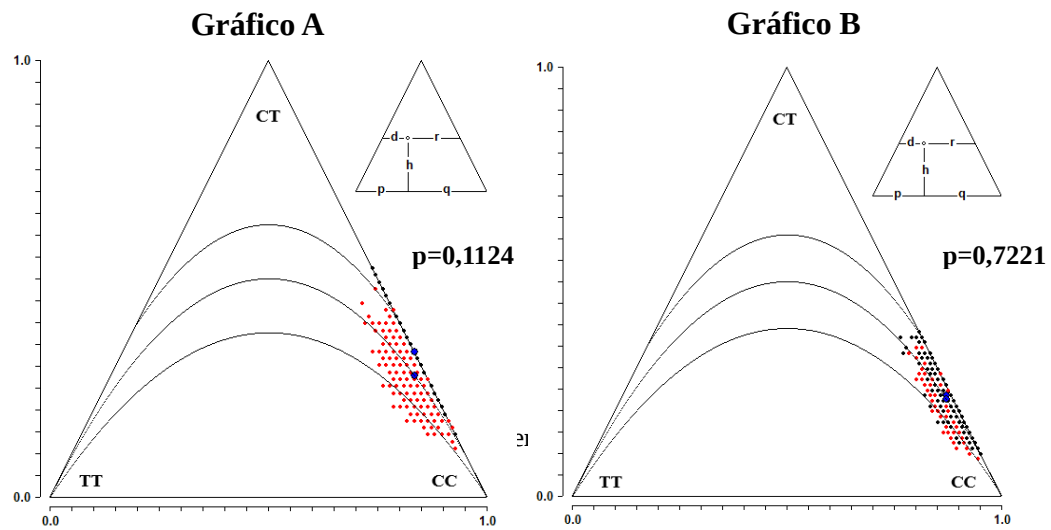
	AF (n=126 alelos)	AA (n=162 alelos)
Presença alelo C	105 (83,52 %)	141 (87,04%)
Presença alelo T	21 (16,67 %)	19 (12,96%)
	AF (n=63)	AA (n=81)
Genótipo CC	42 (43,75 %)	61 (61,36 %)
Genótipo CT	21 (17,5%)	19 (18,27 %)
Genótipo TT	0 (1,75 %)	1 (1,36%)

Fonte: elaborado pelo autor. Legenda: AF: pacientes com anemia falciforme, independente do uso de HU. AA: grupo controle.

Ao se utilizar o programa HW_TEST (Santos; Lemes; Otto, 2020) foi verificado o equilíbrio de Hardy-Weinberg nas populações analisadas (Figura 7).

Foram comparados os parâmetros hematológicos dos pacientes que possuíam o alelo selvagem com o alelo polimorfo nos pacientes que faziam o uso de HU e não se observou diferença entre os grupos (Tabela 4). Além disso, essa comparação foi realizada também nos pacientes que não faziam o uso de HU (Tabela 5).

Figura 7 – Gráfico ternário com a distribuição genotípica das populações estudadas



Fonte: elaborado pelo autor. Legenda: Gráfico A: Grupo de Pacientes; Gráfico B: Grupo controle. No gráfico, os pontos pretos são aqueles observados na população, enquanto os vermelhos são os esperados, de acordo com os testes realizados pelo programa. Considerou-se como equilíbrio da amostra $p > 0,05$.

Tabela 4 – Parâmetros hematológicos de pacientes com AF em uso de HU com gene *IRF8* Selvagens e Polimorfos

	AFHU Selvagem (n=37)	AFHU Polimorfo (n=16)	Valor de p
Hemácias ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	$2,564 \pm 0,1077$	$2,644 \pm 0,1413$	0,6520
Hemoglobina (g/dL)	$9,402 \pm 0,2480$	$9,549 \pm 0,2916$	0,7017
Hematócrito (%)	$26,56 \pm 0,8010$	$26,22 \pm 1,331$	0,8318
VCM (fL)	$108 \pm 2,404$	$106,5 \pm 4,081$	0,7533
HCM (pg)	$37,91 \pm 1,057$	$37,52 \pm 1,608$	0,8418
CHCM (g/dL)	$34,95 \pm 0,314$	$35,12 \pm 0,4524$	0,7599
Leucócito ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	$7,671 \pm 0,5128$	$8,888 \pm 0,9051$	0,2535
Neutrófilo ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	$3,561 \pm 0,3526$	$4,488 \pm 0,6893$	0,2442
Linfócito ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	$3,173 \pm 0,2050$	$3,345 \pm 0,2439$	0,5938
Monócito ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	$0,554 \pm 0,0612$	$0,6727 \pm 0,1100$	0,3566
Plaquetas ($\times 10^5/\text{mm}^3$)	$3,224 \pm 0,2795$	$3,404 \pm 0,2823$	0,6521

Fonte: elaborado pelo autor. Legenda: VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média. Os valores foram representados como Média $\pm$ desvio padrão. Valor de p obtido usando o teste t não pareado. Significância para $p < 0,05$.

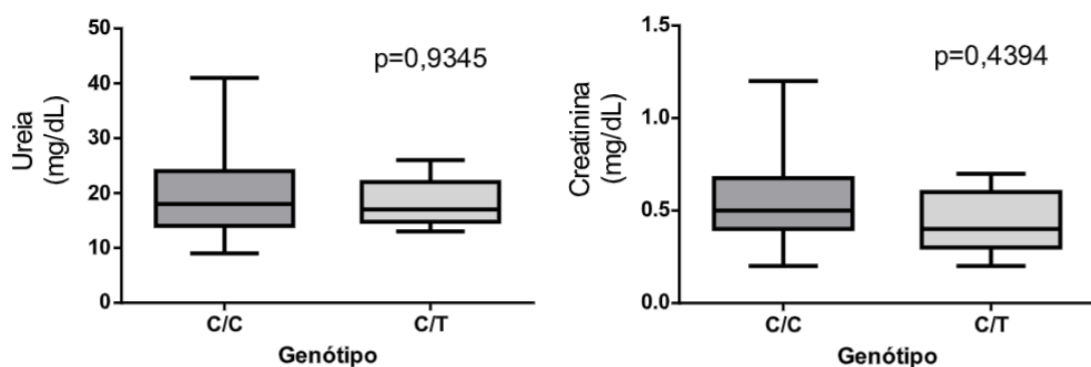
Tabela 5 –Parâmetros hematológicos de pacientes com AF que não fazem o uso de HU com gene *IRF8* Selvagens e Polimorfos

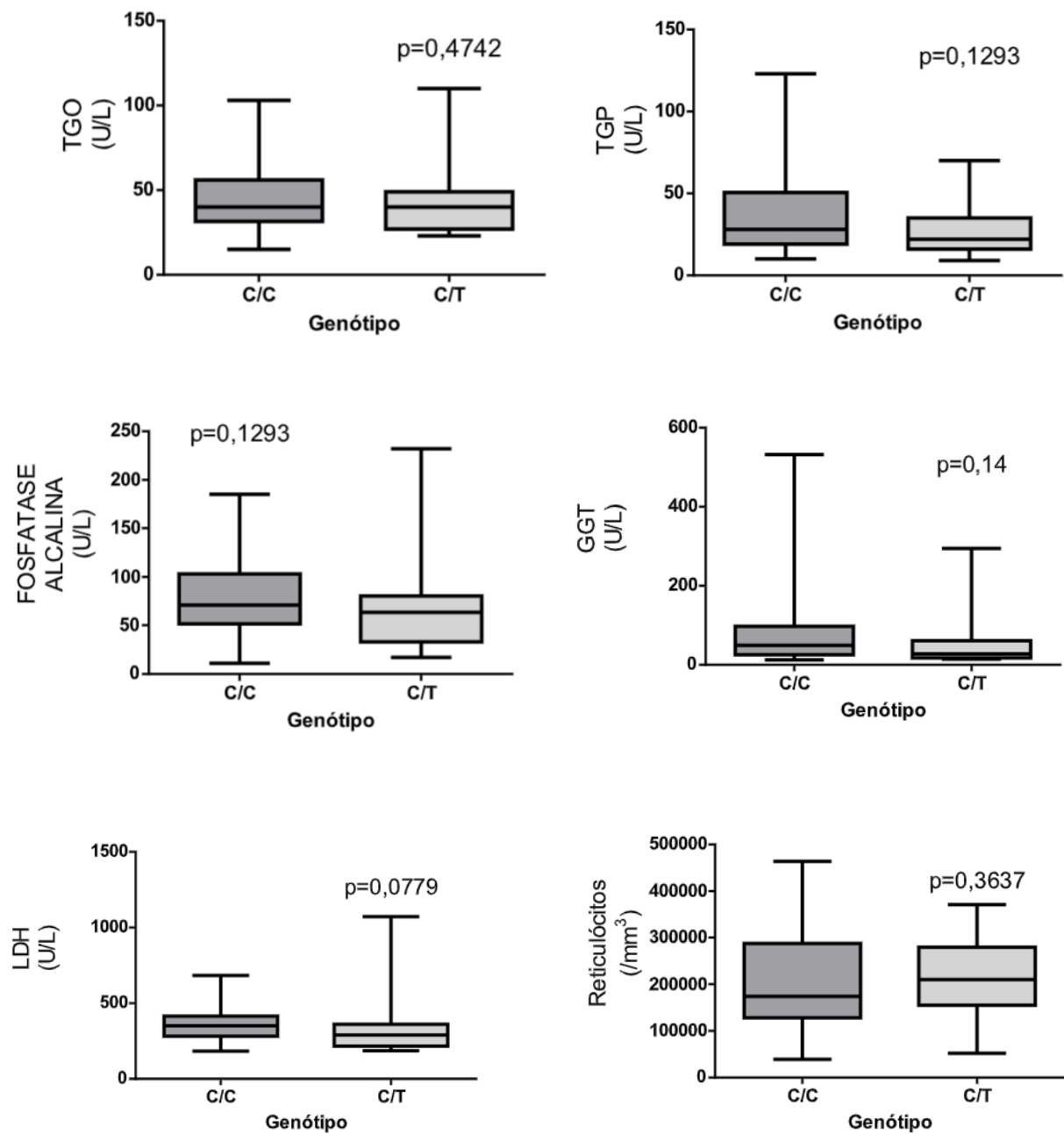
	AF Selvagem (n=5)	AF Polimorfo (n=6)	Valor de p
Hemácias ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	$2,46 \pm 0,4933$	$2,58 \pm 0,5055$	0,701
Hemoglobina (g/dL)	$8,43 \pm 1,2862$	$8,37 \pm 1,4250$	0,946
Hematócrito (%)	$23,54 \pm 3,9023$	$23,97 \pm 4,2507$	0,864
VCM (fL)	$97,48 \pm 3,6034$	$93,54 \pm 7,0434$	0,337
HCM (pg)	$35,38 \pm 1,3687$	$32,81 \pm 3,1200$	0,165
CHCM (g/dL)	$36,29 \pm 0,1359$	$35,07 \pm 1,9126$	0,249
Leucócito ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	$13,83 \pm 3,0099$	$10,9855 \pm 2,6819$	0,131
Neutrófilo ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	$6,14 \pm 1,2128$	$5,1888 \pm 1,8130$	0,340
Linfócito ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	$6,01 \pm 2,0725$	$4,0222 \pm 1,5300$	0,099
Monócito ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	$0,79 \pm 0,3554$	$1,1595 \pm 0,4584$	0,178
Plaquetas ($\times 10^5/\text{mm}^3$)	$3,84 \pm 0,7398$	$3,7791 \pm 0,8048$	0,897

Fonte: elaborado pelo autor. Legenda: AF: pacientes com anemia falciforme; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média. Os valores foram representados como Média $\pm$ desvio padrão. Valor de p obtido usando o teste t para amostras não pareadas. Significância para $p < 0,05$.

Quanto aos parâmetros bioquímicos (função renal, função hepática e marcadores de hemólise) foram comparados os pacientes que apresentavam polimorfismo em relação àqueles que utilizaram HU (Figura 8).

Figura 8 – Biomarcadores de função renal, hepática e de hemólise em pacientes com AF que fazem uso de HU.

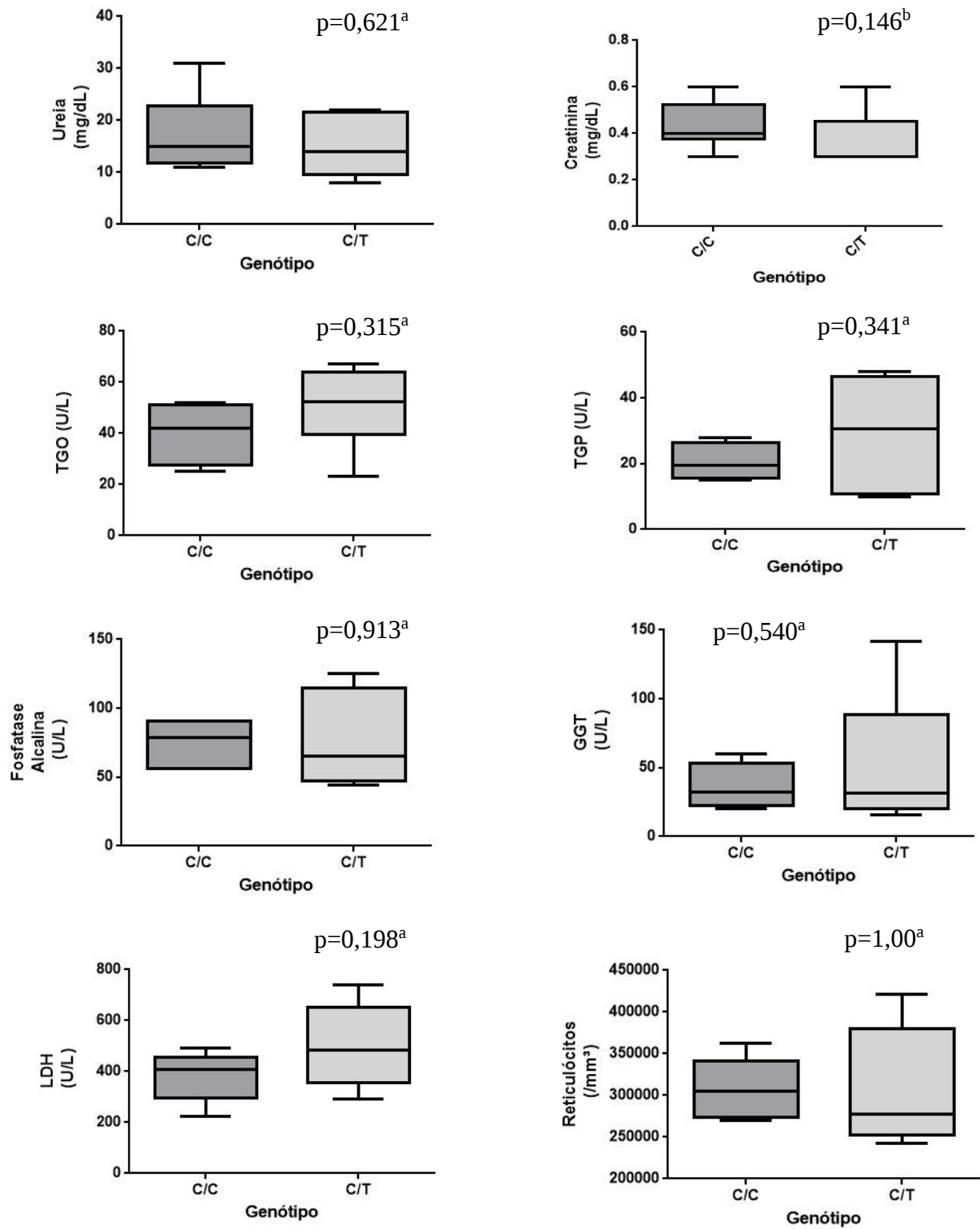




Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: Valores obtidos utilizando-se os testes t de Student^a e o teste de Mann-Whitney^b: C/C: n=37; CT: n=16. Não houve diferença entre os grupos com as variáveis analisadas.

Para os pacientes que não faziam o uso de HU também se comparou os parâmetros bioquímicos daqueles que apresentaram o polimorfismo estudado com aqueles que não o apresentam (figura 9).

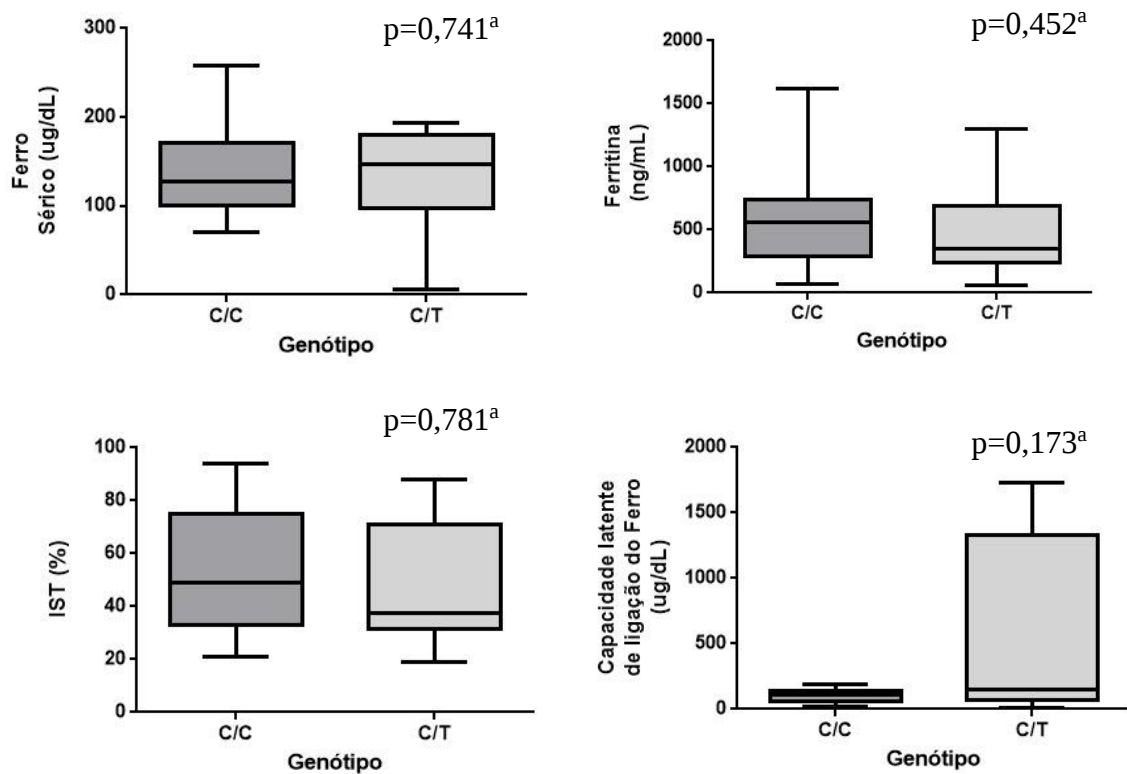
Figura 9 – Biomarcadores de função renal, hepática e de hemólise em pacientes com AF que não fazem uso de HU.



Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: Valores obtidos utilizando-se os testes t de Student^a e o teste de Mann-Whitney^b: C/C: n=5; CT: n=6. Não houve diferença entre os grupos com as variáveis analisadas.

Quanto ao perfil do ferro, foram comparados os pacientes que apresentavam polimorfismo em relação àqueles que não o apresentaram, ambos fazendo o uso de HU (Figura 10).

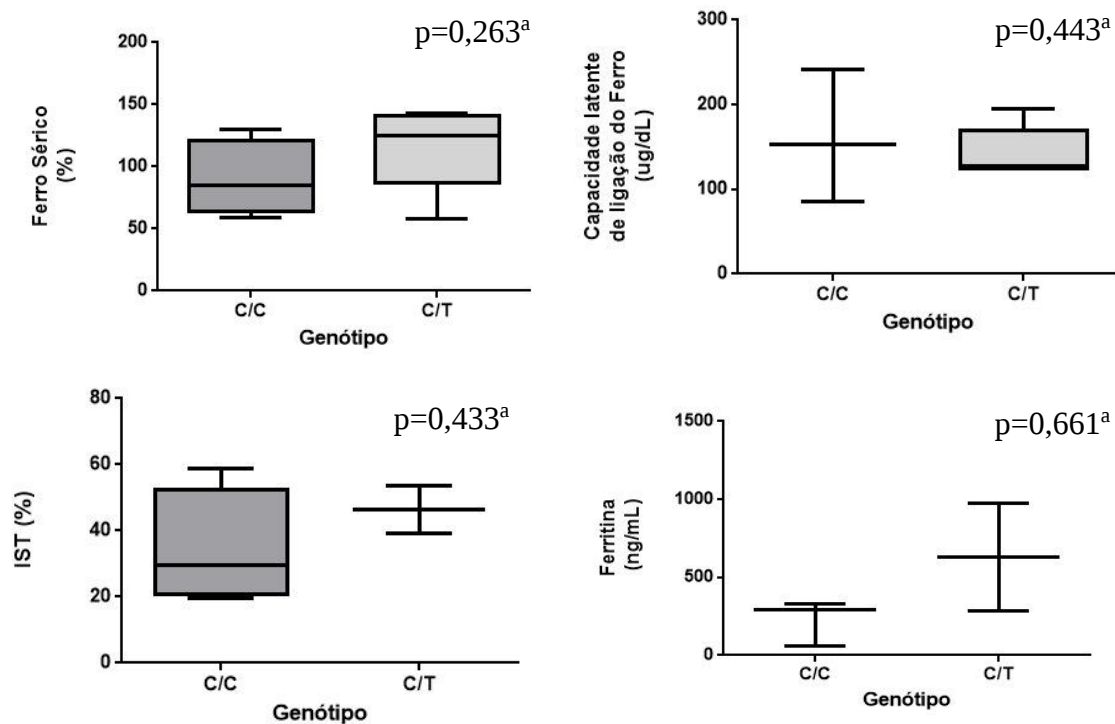
Figura 10 – Ferro sérico, ferritina, Índice de Saturação da Transferrina e Capacidade Total de Ligação do Ferro em pacientes com AF que fazem uso de HU.



Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: Valores obtidos utilizando-se os testes t de Student^a e o teste de Mann-Whitney^b: C/C: n=37; CT: n=16. Não houve diferença entre os grupos com as variáveis analisadas.

No que se refere ao perfil do ferro, também se comparou os pacientes que não faziam uso de HU que apresentaram o polimorfismo em relação àqueles que não o apresentavam (Figura 11).

Figura 11 – Ferro sérico, ferritina, Índice de Saturação da Transferrina e Capacidade Total de Ligação do Ferro em pacientes com AF que não fazem uso de HU.



Fonte: Elaborado pelo autor. Valores obtidos utilizando-se os testes t de Student^a e o teste de Mann-Whitney^b: C/C: n=5; CT: n=6. Não houve diferença entre os grupos com as variáveis analisadas.

Ao investigar a possível relação entre a presença do polimorfismo e as complicações clínicas associadas à AF, os resultados revelam uma ausência de diferenças significativas entre os grupos, conforme detalhado na Tabela 6.

Tabela 6 – Associação do histórico das complicações clínicas na AF com a presença de polimorfismo no gene *IRF8* (rs10514611)

Complicações Clínicas		Selvagem C/C (n=41)	Polimorfo C/T (n=22)	Valor de p*
AVC	SIM	4	1	0,510
	NÃO	38	20	
Insuficiência renal	SIM	5	1	0,654
	NÃO	37	20	
STA	SIM	8	4	1,00
	NÃO	34	17	
Úlcera de Membros Inferiores	SIM	14	5	0,564
	NÃO	28	16	
Colelitíase	SIM	16	5	0,257
	NÃO	26	16	
Colecistite	SIM	3	4	0,156
	NÃO	39	17	

Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: AVC: Acidente Vascular Cerebral; STA: Síndrome Torácica aguda. *Teste Qui- Quadrado de Pearson.

5 DISCUSSÃO

Verificou-se que a maioria dos pacientes estudados eram do sexo feminino com média de idade de 32 anos. Esse resultado se encontra em conformidade com outros estudos (Santos *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2021). O fato de a mutação do gene que causa a AF não estar presente no cromossomo sexual, ocasiona na equivalência de entre ambos os sexos.

Quando se comparou os pacientes com AF do presente estudo com o grupo controle, verificou-se alterações significativas em relação ao número de hemácias, hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM, leucócitos, linfócitos, monócitos e plaquetas. Essas diferenças são características do perfil laboratorial na AF que, mesmo com o uso de HU, apresentam diferenças importantes nesses parâmetros avaliados. Esses resultados corroboram os de Cavalcante *et al.*, (2015), que ao avaliar 25 pacientes adultos com AF em estado basal da doença, independente do uso de HU, verificou valores semelhantes quanto aos dados laboratoriais do hemograma em seu estudo.

A frequência alélica do genótipo selvagem C se mostrou superior tanto no grupo controle quanto no grupo de pacientes, demonstrando que a AF não é um fator para a ocorrência do polimorfismo do *IRF8*. No entanto, resultados encontrados na literatura revelam que, em pacientes com AF, há genes que, em regiões específicas, apresentam SNP's que nessa população apresentam o gene polimorfo em número mais elevado que na população em geral, tal como o *UGT1A1* rs887829 (C>T) descrito como preditor de um menor nível de ferritina em pacientes em uso de deferásirox, um quelante de ferro utilizado por pacientes dependentes de transfusões sanguíneas (Almeida *et al.*, 2023). Na região rs105114611, a frequência de genótipos se apresentou, em sua maioria com o genótipo CC tanto nos pacientes quanto no controle, mostrando uma semelhança entre os grupos avaliados. O teste de qui-quadrado revelou que, apesar das discrepâncias nas frequências genotípicas observadas, ambas as populações apresentaram equilíbrio de Hardy-Weinberg. Além disso, uma frequência mínima de alelos polimorfos do gene *IRF8* (rs 10514611) foi observada neste estudo, diferente, por exemplo, do observado por Laurentino *et al.* 2016 que, estudando o gene *BCL11A* em três regiões diferentes (rs 7557939, rs 4671393 e rs 11886868) verificou em duas delas a predominância do alelo polimorfo, estudando apenas 45 pacientes com AF. A literatura científica não apresenta uma variedade alta de estudos de frequência de polimorfismo do *IRF8* na região rs10514611. Lin *et al.* (2015) estudou o polimorfismo do IF8 nas regiões rs17445836 e encontrou a presença do alelo polimorfo em 84,9% da população e, ao estudar este mesmo gene na região rs2280381, encontrou o polimorfismo em apenas 12,4%.

Os resultados obtidos revelam que não houve distinção significativa nos parâmetros hematológicos entre os grupos de pacientes, considerando a presença ou ausência do polimorfismo do *IRF8* (rs10514611). Esta constatação é consistente tanto nos indivíduos que estavam em tratamento com HU quanto naqueles que não se submetiam a essa terapia específica. Essa neutralidade nos parâmetros hematológicos sugere que, pelo menos no contexto deste estudo, o polimorfismo não exerceu um impacto discernível sobre as variáveis hematológicas monitoradas.

Este estudo não apresentou associação entre o polimorfismo do gene *IRF8* na posição rs10514611 com ureia, creatinina, TGO, TGP, GAMA GT, LDH e Reticulócitos, tanto nos pacientes em uso HU quanto nos que não utilizavam HU. Outros fatores podem influenciar a resposta dos biomarcadores, tais como os haplótipos do gene da β -globina e polimorfismos em regiões promotoras da γ -globina. Assim, mais estudos farmacogenéticos são necessários para se conhecer tanto a frequência, quanto as implicações de SNPs em pacientes com AF (Iolascon; Andolfo; Russo, 2015). Os achados do trabalho mostraram que o polimorfismo do gene *IRF8* estudado não interferiu nos parâmetros analisados nos pacientes que faziam o uso de HU. Uma interpretação possível para este resultado é de que a resposta aos efeitos da HU pode ser independentemente da presença do alelo T no *IRF8*. Além da variação genética específica, outros fatores podem ter um papel crucial nos efeitos bioquímicos observados em pacientes com AF.

A ausência de associação entre os biomarcadores do perfil do ferro e a presença do alelo T (polimorfo) no gene *IRF8*, tanto nos pacientes que usaram HU quanto nos que não adotaram essa terapia, a investigação do metabolismo do ferro em relação a polimorfismos é uma abordagem válida e relevante. Essa evidência encontrada sugere que a variação genética representada pelo alelo T não teve um impacto significativo nos biomarcadores específicos do perfil do ferro analisados, independentemente do uso de HU. Weisberg *et al.* (2001) encontrou uma alteração do metabolismo do ferro devido à presença da mutação 1298 (A>C) no gene Metilenotetrahidrofolato Redutase (*MTHFR*), chegando à conclusão de que a hiperhomocisteinemia é influenciada não apenas por fatores nutricionais, mas também por alterações genéticas pontuais. Simultaneamente, Ueland *et al.* (2001) demonstrou que indivíduos com polimorfismo no gene *MTHFR* apresentam uma alteração na distribuição de folato, resultando em efeitos metabólicos secundários. Além disso, Friedman *et al.* concluíram que a mutação A1298C leva a uma redução na atividade da *MTHFR*, sendo mais acentuada no polimorfismo homozigoto (CC) em comparação com o heterozigoto (AC) ou o homozigoto sem o polimorfismo (AA). Dado o papel crucial do ferro na patogênese da AF e nas complicações

associadas, a ausência de associação com o polimorfismo do *IRF8* não o evidencia como um gene envolvido intrinsecamente com as vias metabólicas do ferro.

Apesar de a presença de AVC se dar em aproximadamente 8% dos pacientes do estudo, é válido destacar a importância crítica desse evento na AF. Em contraste ao presente estudo, Nojosa (2023) verificou associação com o polimorfismo do gene *IRF4* (rs 1877176), no qual a autora identificou que pacientes com AF com o genótipo GG (polimorfo) apresentaram um menor risco de desenvolver este evento, confirmando que a presença do alelo G pode conferir uma proteção em pacientes com AF contra o risco de desenvolver o AVC. Isso ressalta a necessidade de uma abordagem abrangente que considere não apenas as complicações hematológicas, mas também os riscos vasculares associados, como o AVC. Esse tipo de achado é de suma importância para a clínica e o manejo do paciente com AF, uma vez que o rastreio do polimorfismo encontrado como um fator associado à proteção contra uma complicação clínica grave como o AVC, torna-se mais uma via de acompanhamento clínico dos pacientes que não apresentam o polimorfismo encontrado, por conta dessa alteração genética estar associada a uma probabilidade maior de ocorrência do AVC. O presente estudo não encontrou uma associação do polimorfismo do *IRF8* com a ocorrência de AVC. Apesar disso, os estudos de polimorfismos em diferentes genes são essenciais para, além de identificar possíveis marcadores genéticos, há a possibilidade de utilizado como biomarcadores de prognóstico.

Os resultados não mostraram uma associação significativa entre o polimorfismo do *IRF8* (rs10514611) e a presença de insuficiência renal na população com AF. Isso sugere que outros fatores genéticos ou ambientais podem desempenhar um papel mais importante na patogênese da insuficiência renal em pacientes com AF.

Pedroso *et al.* (2010) estudando 153 pacientes adultos internados em UTI com disfunção renal agudamente graves não encontrou associação significativa entre os genótipos ou as frequências alélicas dos polimorfismos I/D e -262A > T da Enzima Conversora de angiotensina. Santos (2015), ao estudar 286 indivíduos com doença poliquística renal e doença renal crônica obteve que o polimorfismo da Haptoglobina, da Glutathione S-transferases T1, da Glutathione S-transferases M1 e da Cistationina β -sintase estiveram relacionadas com a progressão para a Doença renal crônica RC nos indivíduos com Doença poliquística renal autossômica dominante, ou seja, a autora concluiu que estes polimorfismos influenciaram a velocidade das lesões renais à medida que os indivíduos vão progredindo na Doença Renal Crônica até a Doença Renal Terminal. Esses achados destacam a complexidade da interação entre os diferentes genes e variáveis ambientais na determinação do fenótipo clínico renal

pacientes e ressaltam a necessidade de mais pesquisas para elucidar completamente os mecanismos subjacentes à doença renal em paciente com AF.

Os resultados indicaram a ausência de uma associação significativa entre o polimorfismo do *IRF8* e a ocorrência de STA nesse grupo de pacientes. Esses achados apontam para a influência de outros fatores genéticos ou ambientais na patogênese da STA em indivíduos com AF. Cavalcante *et al.* (2015) verificou, ao estudar 25 pacientes com AF no Ceará que um polimorfismo no gene baixo produtor de IL-10 esteve associado com a STA. Em um outro estudo, Cajado *et al.* (2011) estudando polimorfismos em 210 crianças com AF concluíram que o alelo A do polimorfismo do gene *TNF-alfa* -308 (G>A) foi associado a um risco aumentado de eventos de sequestro esplênico, enquanto o alelo T do polimorfismo do gene *IL-8* -251A>T foi considerado um fator protetor para eventos de esplenomegalia. Dessa forma, apesar de não ter sido encontrada uma associação entre o polimorfismo do *IRF8* estudado, existem alterações polimórficas que influenciam nas características fenotípicas dos pacientes. Essa constatação destaca a importância de direcionar atenção e recursos para compreender, prevenir e gerenciar eficazmente a STA em pacientes com AF (Castro, 1994). Assim, resalta-se a importância de investigações adicionais para identificar esses fatores e compreender mais profundamente os mecanismos subjacentes à STA nessa população.

A presença de úlceras em membros inferiores nos pacientes com AF foi a complicação clínica mais frequente identificada no presente estudo (30,2%). Esse achado é ainda mais preocupante, pois está aumentado em relação à frequência encontrada na literatura, a qual relata uma prevalência, no Brasil de 20% dos casos de DF (Minniti *et al.*, 2010). Na amostra estudada pelo presente trabalho, não se observou uma associação entre o polimorfismo do *IRF8* com a presença de úlcera de perna nesses pacientes assim como Santos *et al.* (2021) avaliou a expressão do polimorfismo *NOS3* -786 (T>C) na ocorrência de úlcera de perna em pacientes com DF, mas os autores não encontraram associação entre esse polimorfismo e a presença de úlceras de perna nos 69 pacientes avaliados. Em contrapartida, Souza *et al.* (2021) encontrou um aumento no risco de úlcera de perna em 297 pacientes que apresentaram polimorfismo do gene *TNFRSF25* rs11800462 (C>T) em relação àqueles que não apresentaram. Diante disso, percebe-se a necessidade e complexidade da busca por marcadores genéticos que servirão como prognóstico para pacientes com AF.

A colelitíase por sua vez, foi a segunda complicação mais frequente nos pacientes analisados por este estudo. Esta constatação sugere que esta é uma complicação clinicamente relevante na população com AF. Sua frequência elevada destaca a necessidade de compreender e gerenciar adequadamente essa condição. O presente estudo não encontrou associação entre o

polimorfismo do gene *IRF8* e a ocorrência de colelitíase. Porém, Santos *et al.* (2021), nos 275 pacientes com doença falciforme estudados, verificou uma proteção do polimorfismo do gene *NOS3* rs1799983(G>T) contra a colelitíase.

Nesse contexto, a ausência de associação entre o polimorfismo investigado com os marcadores laboratoriais e as complicações clínicas avaliadas ressalta a complexidade da etiologia genética dessa condição. Esses resultados destacam a necessidade contínua de pesquisas robustas e abrangentes que considerem não apenas os fatores genéticos isolados, mas também sua interação com fatores ambientais e outros aspectos da saúde do paciente.

6 CONCLUSÃO

- A população do estudo foi composta por pacientes cuja média de idade registrada foi 32,68 anos, sendo a maioria do sexo feminino;
- Para o polimorfismo do gene *IRF8* (rs10514611), observou-se uma frequência maior do alelo C (selvagem) em relação ao alelo T (polimorfo) tanto no grupo dos pacientes com AF, quanto no grupo controle. Já quanto ao genótipo apresentado, viu-se que havia uma frequência maior do CC em relação ao CT e ao TT. O mesmo padrão se observou para o grupo controle;
- Não se observou associação do polimorfismo do gene *IRF8* (rs10514611) com os parâmetros laboratoriais avaliados com e sem o uso de HU;
- Não se observou associação polimorfismo do *IRF8* (rs10514611) com as complicações clínicas em pacientes com AF.

REFERÊNCIAS

- ALHWIESH, A. Un update in sickle cell nephropathy. **Saudi J Kidney Dis Transpl.** v. 25, n. 2, p. 249-265, 2014.
- ALMEIDA, A. C. V. *et al.* Polimorfismos genéticos e níveis de ferritina em pacientes com anemia falciforme em uso de deferasirox. **Hematology, Transfusion And Cell Therapy**, v. 45, p. 10-11, out. 2023.
- BALLAS, S. K. More definitions in sickle cell disease: Steady state baseline data. **Am J Hematol.**, United States, n. 87, v. 3, p. 338, 2012.
- BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP, 2001. Biomarkers and Surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. **Clin. Pharmacol. Ther.** 69, 89-95.
- BORBOREMA, T. S. *et al.* Doença falciforme: atualização clínica e abordagem educacional para os profissionais de saúde. **Delos: DESARROLLO LOCAL SOSTENIBLE**, v. 16, n. 44, p. 1042-1055, 23 jun. 2023.
- BORGES, E. L. *et al.* Recomendações para o manejo da úlcera da perna em pessoas com doença falciforme. **Revista Enfermagem Uerj**, v. 28, p. 1-8, 2020.
- CAJADO C. *et al.* TNF-alpha and IL-8: Serum levels and gene polymorphisms (-308G>A and -251A>T) are associated with classical biomarkers and medical history in children with sickle cell anemia. **Cytokine**, v. 56, n. 2, p. 312-317, 2011.
- CASTRO O. *et al.* A síndrome torácica aguda na doença falciforme: incidência e fatores de risco. O Estudo Cooperativo da Doença Falciforme. **Sangue**, 1994; v. 84, n.2 p. 643-649, 1994.
- CAVALCANTE, J. E. *et al.* Clinical events and their relation to the tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 genotypes in Sickle-Cell Anemia patients. **Hematol Oncol Stem Cell Ther.**, 2015.
- CESAR, P. *et al.* Epidemiological, clinical, and severity characterization of sickle cell disease in a population from the Brazilian Amazon. **Hematol Oncol Stem Cell Ther**, v. 12, n. 4, p. 204-210, 2019.
- CIDADANIA, MINISTÉRIO DOS DIREITOS HUMANOS E DA. Anemia falciforme atinge cerca de 8% da população negra no Brasil. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/mdh/pt-br/assuntos/noticias/2021/junho/anemia-falciforme-atinge-cerca-de-8-da-populacao-negra-no-brasil>.
- CONRAN, N.; FRANCO-PENTEADO, C. F.; COSTA, F. F. Newer Aspects of the Pathophysiology of Sickle Cell Disease Vaso-Occlusion. **Hemoglobin**, v. 33, n. 1, p. 1-16, 2009.
- CONTE, T. O. de C. *et al.* Incidência e manejo das urgências clínicas de pacientes portadores de anemia falciforme. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 6, n.4, p.18603-18619. 2023.
- DIAZ-MATALLANA, Marcela *et al.* Disease genotype, haplotypes, diagnosis and associated studies in sickle cell anemia. **Revista Médica do Chile**, v. 149, n. 9, p. 1322-1329, 2021.

DING, S. *et al.* Tagging Single Nucleotide Polymorphisms in the IRF1 and IRF8 Genes and Tuberculosis Susceptibility. **Plos One**, v. 7, n. 8, p. e42104, 2012.

DZIKIEWICZ-KRAWCZYK, A. *et al.* Polymorphisms in microRNA target sites modulate risk of lymphoblastic and myeloid leukemias and affect microRNA binding. **Journal Of Hematology & Oncology**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2014.

FERREIRA, Reginaldo; GOUVÊA, Cibele Marli Cação Paiva. Recent advances in the sickle cell anemia treatment. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 28, n. 1, p. 1-6, jun. 2018.

FITZSIMMONS, R.; AMIN, N.; UVERSKY, V. N. Understanding the roles of intrinsic disorder in subunits of hemoglobin and the disease process of sickle cell anemia. **Intrinsically Disordered Proteins**, v. 4, n. 1, 2016.

FRIEDMAN, G. *et al.* A common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene: association with plasma total homocysteine and folate concentrations. **Journal of Nutrition**, Oxford, v. 129, p. 1656–1661, 1999.

FROED, A. *et al.* Colelitíase em paciente com doença falciforme. **Rev Med Minas Gerais**, v. 22, p. S79-S81, 2012.

GALIZA NETO, G. C.; PITOMBEIRA, M. S. Aspectos Moleculares da Anemia Falciforme. **J Bras Patol Med Lab**, v. 39, n. 1, RJ, p. 51-56, 2003.

GRANJA, P. D. *et al.* Úlceras de perna em pacientes com anemia falciforme. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 19, p. 1-8, 2020.

HANNEMANN, A. *et al.* The Properties of Red Blood Cells from Patients Heterozygous for HbS and HbC (HbSC Genotype). **Anemia**, v. 2011, n. 1, p. 1-8, set. 2011.

HEBBEL, R. P.; VERCELLOTTI, G. M. Pathobiology of sickle cell disease. In: HOFFMAN, R. (Ed.). *Hematology*: Elsevier, 2018.c. 41 p.571-583.

HONDA K, TANIGUCHI T.. IRFs: master regulators of signaling by Toll-like receptors and cytosolic pattern-recognition receptors. **Nat Rev Immunol**, v. 6, p. 644–658, 2006.

IOLASCON, A. I.; ANDOLFO, I; RUSSO, R. Red cells ins post genomic era: impact of personalized medicine in treatment of anemias. **Haematologica**, v. 100, n. 1, 2015.

KATO, G. J. *et al.* Sickle cell disease. **Nat Rev Dis Primers**, v. 4, n. 18010, p. 1-22, 2018.

LAURENTINO, M. R. Methemoglobin measure in adult patients with sickle-cell anemia : influence of hydroxyurea therapy. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 50, n. 3, p. 184-188, jun. 2014.

LIMA, L. C. *et al.* Fisiopatologia da doença renal crônica em adultos com doença falciforme. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 14, n. 3, p. 58-63, 2015.

LIN, Jiunn-Diann; *et al.* Association of IRF8 gene polymorphisms with autoimmune thyroid disease. **European Journal Of Clinical Investigation**, v. 45, n. 7, p. 711-719, 2015.

LUM, A. F. H. *et al.* Inflammatory potential of neutrophils detected in sickle cell disease. **American Journal of Hematology**, v. 76, n. 2, p. 126–133, 2004.

MANDAL, Amit Kumar; MITRA, Amrita; DAS, Rajdeep. Sick Cell Hemoglobin. **Subcellular Biochemistry**, v. 94, n. 1, p. 297-322, 2020.

McGANN, P. T.; WARE, R. E. Hydroxyurea therapy for sickle cell anemia. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 14, n. 11, p. 1749-1758, 2015.

MINNITI, C. P. *et al.* Leg ulcers in sickle cell disease. **American Journal Of Hematology**, v. 85, n. 10, p. 831-833, 23 jul. 2010.

MOREIRA, J. A. *et al.* Pattern of hemolysis parameters and association with fetal hemoglobin in sickle cell anemia patients[in steady state. **Rev bras hematol hemoter.**, n. 37, v. 3, p.167-171, 2015.

MOURA JUNIOR, Nélío Gomes de. **Anemia Falciforme: um panorama atual da doença**. 2017. 53 f. TCC (Graduação em Farmácia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

NASCIMENTO, B. M. R. *et al.* Occurrence of cholelithiasis in patients with sickle cell anemia: an integrative literature review. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. e58911326868, 2022.

NATH K.A., HEBBEL R. P. Doença falciforme: manifestações e mecanismos renais. **Nat Rev Nefrol.** v. 11, n. 3, p.161–171, 2015.

NOJOSA, A. K. B. **INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO FATOR REGULADOR DE INTERFERON 4 (rs1877176) NA CLÍNICA E NOS NÍVEIS SÉRICOS DO INTERFERON-GAMA, EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**. 2023. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2023.

ONIMOE, Grace; ROTZ, Seth. Sickle cell disease: a primary care update. **Cleveland Clinic Journal Of Medicine**, v. 87, n. 1, p. 19-27, jan. 2020.

PALLARÉS, J. A.; GUITART, M.; VILA, E. G. Bases genéticas de los trastornos del neurodesarrollo. **Revista de Neurología**, v. 56, n. 01, p. 23-34, 2013.

PEDROSA, A. M.; LEAL, L. K. A.; LEMES, R. P. G.. Effects of hydroxyurea on cytotoxicity, inflammation and oxidative stress markers in neutrophils of patients with sickle cell anemia: dose-effect relationship. **Hematology, Transfusion And Cell Therapy**, v. 43, n. 4, p. 468-475, 2021.

PEDROSO, José Alberto Rodrigues *et al.* Análise da tendência temporal de dano renal agudo entre pacientes graves conforme polimorfismo I/D e -262A > T da enzima conversora da angiotensina. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, [S.L.], v. 32, n. 2, p. 182-194, jun. 2010.

PIEL, F. B. The present and future global burden of the inherited disorders of hemoglobin. **Hematol Oncol Clin**, v. 30, n. 2, p. 327-341, 2016.

PIEL, F. B.; STEINBERG, M. H.; REES, D. C. Sickle cell disease. **New England Journal of Medicine**, n. 376, v. 16, p. 1561-1573, 2017.

REIS, L. M. *et al.* Análise da relação da ocorrência de polimorfismo de nucleotídeo único do gene DOCK9 em ceratocone. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 75, n. 3, p. 223-227, 2016.

SAMUEL, S. S.; JAIN, N. Sick Cell Hepatopathy. In: **StatPearls.**, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34662016/> Acesso em: 18 de janeiro de 2024.

SANTOS, A. L. **Perfil de pessoas com doença falciforme em uma unidade de emergência: implicações para o cuidado de enfermagem.** 104 f Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2014.

SANTOS, Ana Carolina Casinhas dos. **Estudo dos Genes Modificadores da Doença Poliquística Renal Associados à Doença Cardiovascular.** 2015. 149 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Biologia Humana e Ambiente, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2015.

SANTOS, E. C. *et al.* Acidente Vascular Cerebral em pacientes portadores de Anemia Falciforme. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 32, p. 958-965, 2019.

SANTOS, P. N. D. *et al.* Sick cell anemia: characterization of the patients attended in a specialist outpatient center. **Cogitare Enferm**, v. 19, n. 4, p.725-733, 2014.

SANTOS, M. P. *et al.* Perfil epidemiológico de casos notificados da doença falciforme no ceará. **Brazilian Journal Of Development**, v. 7, n. 1, p. 6840-6852, 2021.

SANTOS, E. D. C *et al.* EXPRESSÃO DO POLIMORFISMO NOS3 -786 T>C E METABÓLITOS DE ÓXIDO NÍTRICO NA OCORRÊNCIA DE ÚLCERA DE PERNA EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME. **Hematology, Transfusion And Cell Therapy**, v. 43, p. 22-22, 2021.

SANTOS, Fernando Azenha Bautzer; LEMES, Renan Barbosa; OTTO, Paulo Alberto. HW_TEST, a program for comprehensive HARDY-WEINBERG equilibrium testing. **Genetics and Molecular Biology**, v. 43, n. 2, 2020.

SILVA, C. G. F. *et al.* Colelitíase: aspectos etiopatogênicos, métodos diagnósticos e condutas terapêuticas. **Brazilian Journal Of Development**, v. 9, n. 05, p. 16758-16769, 2023.

SILVA, Maria Priscila Peixoto e; SILVA, Kenia Cristina Paulo Ferreira da; SANTOS, Walquiria Lene dos. Atualizações sobre anemia falciforme – hidroxíureia. **Jornal de Estudos Acadêmicos**, v. 8, n. 4, p. 318-326, 30 mar. 2021.

SOUZA, Janaina Martins *et al.* Fisiopatologia da anemia falciforme. **Revista Transformar**, n. 8, p. 162-179, 2016.

SOUZA, V. R. **Fatores associados à presença de úlcera de pernas na coorte de doença falciforme, REDS III, Brasil, 2013-2017.** 2021. Dissertação (Mestrado em Distúrbios do Crescimento Celular, Hemodinâmicos e da Hemostasia) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

STYPULKOWSKI, J. B.; MANFREDINI, V. Alterações hemostáticas em pacientes com doença falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 1, p. 56–62, 2010.

SUNDD P.; GLADWIN M. T.; NOVELLI E. M. Pathophysiology of Sick Cell Disease. **Annu Rev Pathol.** v.14, p. 263-292, 2019.

TAKAOKA, A.; TAMURA, T.; TANIGUCHI, T. Interferon regulatory factor family of transcription factors and regulation of oncogenesis. **Cancer Science**, v. 99, n. 3, p. 467-478, 2008.

TAVARES, Jca *et al.* Triagem de hemoglobina variante na população adulta de doadores de sangue em um hemocentro público do Recife. **Hematology, Transfusion And Cell Therapy**, v. 44, p. 376-377, out. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.637>.

TOMÉ-ALVES, Renata *et al.* Hemoglobinas AS/alfa talassemia: importância diagnóstica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 22, n. 3, p. 388-394, dez. 2000.

UELAND, P. M. *et al.* Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. **TRENDS in Pharmacological Sciences**, Bergen, v. 22, n. 4, p. 195- 201, 2001.

WEISBERG, I.S. *et al.* The 1298 A-C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine. **Atherosclerosis**, Montreal, v. 156, n. 2001, p. 409-415, 2001.

WEISZ, A. *et al.* Human interferon consensus sequence binding protein is a negative regulator of enhancer elements common to interferon-inducible genes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 35, p. 25589-96, 1992.

YOUSEF, A. *et al.* Acute chest syndrome in pediatric sickle cell disease: a 19-year tertiary center experience. **Annals Of Thoracic Medicine**, v. 17, n. 4, p. 199-206, 2022.

ZAGO, Marco Antonio; PINTO, Ana Cristina Silva. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 3, p. 207-214, 2007.

ZHAO, J. *et al.* IRF-8/Interferon (IFN) Consensus Sequence-binding Protein Is Involved in Toll-like Receptor (TLR) Signaling and Contributes to the Cross-talk between TLR and IFN- γ Signaling Pathways. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 15, p. 10073-10080, 2006.

ZHOU, Z.; BEHYMER, M.; GUCHHAIT, P. Role of extracellular hemoglobin in thrombosis and vascular occlusion in patients with sickle cell anemia. **Anemia**, 2011.

ZHU, L. *et al.* Cellular metabolism and macrophage functional polarization. **International Reviews of Immunology**, v. 34, n. 1, p. 82-100, 2015.

APÊNDICE A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ - HEMOCE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Polimorfismos em genes de fatores reguladores de interferon em pacientes com anemia falciforme: associação com biomarcadores de inflamação e reguladores do ferro.

Pesquisador: ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES LEMES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 63323722.1.0000.8152

Instituição Proponente: SECRETARIA DA SAUDE DO ESTADO DO CEARA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.185.474

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo do projeto e das Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2168582_E.pdf). Os fatores de transcrição controlam a expressão de conjuntos diversos de genes, atuando como um importante regulador da defesa do hospedeiro por meio das respostas celulares. Eles possibilitam uma rápida alteração e expressão de genes essenciais para combater patógenos extracelulares, sendo também relacionados com o perfil das respostas inflamatórias. A hemólise crônica e a frequência de episódios de vaso-occlusão são determinantes na evolução clínica dos indivíduos com anemia falciforme (AF). Nesse contexto, polimorfismos de nucleotídeo único (IRF-1, IRF-4 e IRF-8) podem causar alterações as respostas inflamatórias, visto que estão associados diretamente com a produção de citocinas inflamatórias. Muitos estudos mostram o papel do IRF-1 e IRF-8 como importante mediador nos processos inflamatórios e relacionados com grande número de doenças, a saber a AF. Por outro lado, o IRF-4 tem papel regulador negativo na resposta, pois induz células Treg e estimulam a produção de IL-4 e IL-10. O estudo proposto é do tipo transversal, descritivo e analítico, no qual um grupo de participantes com anemia falciforme acompanhados no hemocentro entre outubro/22 e julho/23 serão comparados com grupo controle de doadores saudáveis. A análise inclui o pareamento de acordo

Endereço: Av. José Basílio, 3360 & Rodolfo Teófilo & Corredor Administrativo - Sala Prof. Munio Martins Cidade: F
Bairro: RODOLFO TEÓFILO **CEP:** 60.431-086
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3104-2273 **E-mail:** cep@hemoca.ce.gov.br

CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ - HEMOCE



Continuação do Protocolo: 6.185.474

com a idade e sexo. Os dados clínicos (frequência de crises dolorosas, uso de hidroxiureia), epidemiológicos (idade, sexo, peso e altura) e laboratoriais (hemograma e dosagem de hemoglobina fetal) serão consultados nos prontuários. Será coletada uma amostra de sangue em tubo com gel separador para as dosagens das citocinas INF- e IL-6. Ainda, uma amostra de sangue/EDTA para extração de DNA. Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) de IRF-1 (rs 839), IRF-4 (rs 12203592 e rs 1877176) e IRF-8 (rs 10515611) serão analisados por ensaio de discriminação alélica por PCR em tempo real no 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, California, USA).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral: Avaliar a ocorrência dos polimorfismos nos genes de IRF-1, IRF-4 e IRF-8 e os marcadores do ciclo do ferro em pacientes com anemia falciforme. **Objetivos secundários:** Analisar a ocorrência de polimorfismos nos genes de IRF-1, IRF-4 e IRF-8 em pacientes com anemia falciforme e indivíduos saudáveis; Realizar a quantificação sérica de citocinas inflamatórias em pacientes com anemia falciforme e indivíduos saudáveis; Identificar a relação entre a ocorrência de polimorfismos e a expressão de citocinas inflamatórias em pacientes com anemia falciforme; Associar a ocorrência de polimorfismos com as crises vaso-oclusivas em pacientes com anemia falciforme; Associar as dosagens séricas de hepcidina, eritropoietina e citocinas inflamatórias ao grau de anemia e ao uso de HU de pacientes com AF; Investigar a associação das dosagens séricas de hepcidina e eritropoietina com o perfil do ferro (ferro sérico, ferritina sérica, capacidade total de ligação do ferro, índice de saturação do ferro, receptor solúvel do ferro), nos pacientes com AF; Avaliar o comportamento da hepcidina e da eritropoietina em pacientes com AF que apresentam sobrecarga de ferro.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são mínimos e relacionados à coleta de sangue que os pacientes já estão acostumados. Além do risco de divulgação de dados pessoais. Os benefícios são grandes pelo melhor entendimento das causas dos efeitos inflamatórios da doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A emenda apresentada diz respeito à inclusão de análise de três polimorfismos em dois membros da família dos fatores reguladores de interferon, a saber: IRF-4 (rs 12203592 e rs 1877176) e IRF-8 (rs 10515611). A escolha desses polimorfismos é justificada por sua relação com a resposta imune e o perfil das respostas inflamatórias, incluindo a imunopatogenicidade da doença falciforme. Ademais, não haverá mudanças metodológicas.

Endereço: Av. José Bezerra, 3300 - Rodolfo Teófilo - Corredor Administrativo - Sala Prof. Murilo Martins Cidade: F
Bairro: RODOLFO TEÓFILO **CEP:** 60.431-086
UF: CE **Município:** PORTALEZA
Telefone: (85) 3104-2273 **E-mail:** cep@hemoca.ce.gov.br

CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ - HEMOCE



Continuação do Parecer: 8.185.474

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram devidamente apresentados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O Comitê de Ética em pesquisa do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará analisou o projeto e o considerou aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador(a) deverá apresentar relatório parcial a cada seis meses, e o relatório final quando do término do estudo (Resolução 466/2012, XI.2.d e Resolução 510/16, Art. 28, V), via notificação na Plataforma Brasil.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2168582_E1.pdf	24/06/2023 11:38:42		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Emenda_Projeto_mestrado_Luan_final.docx	24/06/2023 11:38:18	ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES LEMES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Controlo.docx	12/09/2022 11:09:01	ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES LEMES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_AF.docx	12/09/2022 11:08:50	ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES LEMES	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Romelia_Lemes.pdf	12/09/2022 11:08:10	ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES	Aceito
Outros	lattes_luan.pdf	12/09/2022 11:06:35	ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES	Aceito
Outros	TFD_Luan_Reboucas.pdf	12/09/2022 11:01:40	ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TDA_Luan_Reboucas.pdf	12/09/2022 11:01:11	ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES LEMES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AEP_Luan_Reboucas.pdf	12/09/2022 10:59:38	ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES LEMES	Aceito

Situação do Parecer:

Endereço: Av. José Barroso, 3380, Rodolfo Teófilo, Corredor Administrativo - Sala Prof. Murilo Martins Cidade: F
Bairro: RODOLFO TEÓFILO CEP: 60.431-088
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3101-3273 E-mail: cep@hemoca.ce.gov.br

**CENTRO DE HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO CEARÁ -
HEMOCE**



Continuação do Parecer: 6.185.474

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 17 de Julho de 2023

Assinado por:

**Luiz Ivando Pires Ferreira Filho
(Coordenador(a))**

Endereço: Av. José Bastos, 3360 - Rodolfo Teófilo - Corredor Administrativo - Sala Prof. Murilo Martins Cidade: F
Bairro: RODOLFO TEÓFILO **CEP:** 60.431-086
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3101-2273 **E-mail:** cnp@hemocs.ce.gov.br

APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar do estudo intitulado "Polimorfismo no gene de IRF-1 em pacientes com anemia falciforme: associação com biomarcadores de inflamação e reguladores do ferro", o qual está sendo desenvolvido pela Prof. Dr. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes. Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deve ler e compreender todo o conteúdo e, em caso de dúvidas, a equipe deste estudo responderá às suas perguntas. Ao final, caso decida participar, você será solicitado (a) a assinar este documento e receberá uma cópia.

O objetivo deste estudo é avaliar como as características presentes no sangue influenciam a inflamação em pessoas com Anemia Falciforme, de forma que poderá beneficiar os portadores de anemia falciforme possibilitando maiores informações sobre a doença ao profissional de saúde o que auxilia na tomada de decisões e intervenções terapêuticas para melhor qualidade de vida do paciente. Para tanto, solicitamos que o(a) Sr. (a) autorize a coleta de 2 (dois) tubos de sangue (4 mL), as quais serão obtidas por punção venosa no braço no momento da doação. Também serão coletadas informações sobre dados laboratoriais (hemograma), idade, sexo, peso e altura presentes em seu prontuário. Os riscos envolvidos na participação do estudo são maiores que o mínimo, estando relacionados com a possibilidade de dor e formação de mancha roxa devido à coleta de sangue. A fim de evitar isso, as coletas serão realizadas por equipe treinada. As amostras coletadas serão transportadas em gelo no isopor até o Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica, do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará e, após analisadas, serão armazenadas em freezer a -80°C para posterior análise de material genético.

A participação do(a) senhor(a) na pesquisa será oportunística, plenamente voluntária e consciente. Não haverá qualquer forma de pagamento ou compensação material. O(a) senhor(a) pode desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo de sua assistência médica. Suas amostras serão utilizadas para comparação dos resultados com pacientes portadores de anemia falciforme e, ao fim do estudo, serão descartadas através de incineração de material biológico por uma empresa especializada contratada pela Universidade Federal do Ceará. Sua identidade será mantida em sigilo absoluto, sendo a divulgação dos resultados totalmente proibida a terceiros, ficando restrita à discussão acadêmica de âmbito científico e, ainda assim, sem qualquer possibilidade de identificação. Será, no entanto, permitido o acesso às informações sobre procedimentos relacionados à pesquisa. Em qualquer

etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes, endereço para contato: Rua Pastor Samuel Munguba, 1210 – Rodolfo Teófilo, CEP 60430-372 - Fortaleza, CE – Brasil, Telefone: (85) 99822-4040.

Se o(a) Senhor(a) tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUWC – Rua Capitão Francisco Pedro 1290, Rodolfo Teófilo; fone: 3366-8589 – E-mail: cephuwc@huwc.ufc.br. Caso o(a) Senhor (a) sinta-se suficientemente informado a respeito das informações que leu ou que foram lidas para você sobre os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes e que sua participação é voluntária, que não há remuneração para participar do estudo e se o senhor(a) concorda em participar solicitamos que assine no espaço abaixo nas duas vias do documento. Você ficará com uma das vias assinadas por você ou seu responsável legal e pelo pesquisador.

Assinatura do paciente/ representante legal

Data: / /

Assinatura do responsável pelo estudo

Data: / /