

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

CAMPUS GOVERNADOR VALADARES

PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E
BIOLOGIA MOLECULAR

Thaís Netto Souza Valente

Associação entre as variantes dos genes de receptores ativados por proliferação de peroxissomos (*PPAR*) e a variante regulatória dos genes da alfa-globina (*HBA*) com aspectos laboratoriais e clínicos em indivíduos com anemia falciforme

Governador Valadares

2024

Thaia Netto Souza Valente

Associação entre as variantes dos genes de receptores ativados por proliferação de peroxissomos (*PPAR*) e a variante regulatória dos genes da alfa-globina (*HBA*) com aspectos laboratoriais e clínicos em indivíduos com anemia falciforme

Tese apresentada como requisito parcial para conclusão do curso de doutorado, do Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Juiz de Fora. Linha de pesquisa: Bioquímica patológica

Orientadora: Dr^a. Cibele Velloso Rodrigues

Governador Valadares

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Valente, Thaisa Netto Souza.

Associação entre as variantes dos genes de receptores ativados por proliferação de peroxissomos (PPAR) e a variante regulatória dos genes da alfa-globina (HBA) com aspectos laboratoriais e clínicos em indivíduos com anemia falciforme / Thaisa Netto Souza Valente. -- 2024.

207 f.

Orientadora: Cibele Velloso-Rodrigues

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências da Vida - ICV. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, 2024.

1. Anemia falciforme. 2. HBA. 3. Hidroxiuréia. 4. PPAR. 5. Alfa-talassemia. I. Velloso-Rodrigues, Cibele, orient. II. Título.

Thaís Netto Souza Valente

Associação entre as variantes dos genes de receptores ativados por proliferação de peroxissomos (PPAR) e a variante regulatória dos genes da alfa-globina (HBA) com aspectos laboratoriais e clínicos em indivíduos com anemia falciforme

Tese apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Bioquímica e Biologia Molecular. Área de concentração: Bioquímica e Biologia Molecular.

Aprovada em 30 de agosto de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Cibele Velloso Rodrigues - Orientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Pâmela Souza Almeida Silva
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Raquel Tognon Ribeiro
Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Felipe Alves de Almeida
Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. Marcelo Rizzatti Luizon
Universidade Federal de Minas Gerais

Juiz de Fora, 02/09/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Cibele Velloso Rodrigues, Professor(a)**, em 02/09/2024, às 14:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Tognon Ribeiro, Usuário Externo**, em 02/09/2024, às 15:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Felipe Alves de Almeida, Usuário Externo**, em 02/09/2024, às 15:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Rizzatti Luizon, Usuário Externo**, em 03/09/2024, às 08:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Pâmela Souza Almeida Silva Gerheim, Professor(a)**, em 03/09/2024, às 10:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1958670** e o código CRC **73F09B05**.



Dedico à minha orientadora Cibele que não me deixou desistir diante das adversidades e também à minha família, Maria da Graça, Reinaldo, Isabel, Célia, Rita, Inácio, Catarina e especialmente à Ana Lis.

AGRADECIMENTOS

Deus tem me fortalecido até aqui e sem Ele, provavelmente não teria conseguido finalizar esse doutorado. Por isso, a todo momento louvo e dou graças a Deus! Obrigada por me fazer tão forte e resiliente!

Fui colocada a prova por inúmeras vezes ao longo desses quatro anos e meio de doutorado: pandemia, impedimento de entrada ao Hemominas em decorrência da pandemia, perda de reagentes do projeto de pesquisa por três vezes, mudança de projeto e três comitês de ética em pesquisa. Em paralelo, os diversos desafios na minha vida pessoal... Sem a ajuda de Deus e o apoio da minha família e orientadora, com certeza não teria sido possível finalizar.

À Isabel, minha irmã, obrigada por ser você, seu apoio e determinação em me ver vencer fizeram toda a diferença e Ramon, meu cunhado, obrigada pelo amparo. Ao meu sobrinho e afilhado Inácio, que trouxe alegria em momentos tão difíceis. À sobrinha Catarina que veio para completar nossa família. À minha admirável mãe, Maria da Graça, obrigada por cuidar, apoiar e rezar por mim e pela Ana Lis. Ao meu pai, Reinaldo, obrigada por ser meu ponto de equilíbrio e me ajudar a enxergar o que não é bom para mim. As tias Célia e Rita, toda a minha gratidão pelo apoio e por cuidar da Ana Lis para que eu pudesse estudar. À minha amada e desejada filha Ana Lis, a sua chegada foi a maior benção que eu já recebi em toda a minha vida! Obrigada por me escolher e me motivar a ser melhor a cada dia. À Graziella, minha amiga, que me ajudou em situações muito complexas e me apresentou a Santa Terezinha, como sou grata por sua amizade.

Nilcemar e Domício, trabalhando juntos percebemos que somos mais fortes, obrigada pela parceria e por cederem os bancos de dados. João Paulo, obrigada pela assistência na coleta dos TCLE/TALEs. Ao estimado professor Antônio Frederico pelo apoio, incentivo e colaborações essenciais. À professora Fernanda pelos ensinamentos estatísticos. Aos membros da banca de qualificação, André Rolim Belisário, Pâmela Souza Almeida Silva e Felipe Alves de Almeida pelas contribuições tão valiosas.

À minha orientadora Cibele Velloso Rodrigues que teve tanta sororidade, ficou ao meu lado, ajudando-me a reerguer e não deixando-me desistir. Obrigada Cibele, o mundo precisa de mais pessoas como você, que além de ser uma profissional, pesquisadora e mãe incrível, também é sensível a realidade do outro. A sua contribuição na minha vida, vai muito além da científica.

Aos familiares e portadores da doença falciforme do Hemocentro Regional de Governador Valadares da Fundação Hemominas, que confiaram, apoiaram e participaram da

pesquisa, todo o meu respeito e gratidão. A equipe de funcionários do Hemocentro Regional de Governador Valadares, pessoas fundamentais para o desenvolvimento do trabalho.

Ao meu antigo Departamento de Ciências Básicas da Vida e a toda a equipe da UFJF-GV, tenho imenso carinho por todos os colegas e amigos que tive o prazer de conhecer, conviver e aprender ao longo desses 9 anos. Em especial ao Laboratório de Biologia Celular e Genética Molecular, local que tenho muito orgulho de dizer que trabalhei. Tenho certeza que a minha passagem foi marcante, deixei bastante de mim e também levei na bagagem muita experiência, conhecimento e crescimento profissional. Obrigada UFJF-GV e Governador Valadares, locais importantes da minha história.

À minha chefia imediata professora Alessandra e ao chefe do departamento de Farmácia, professor Marcelo, da UFJF *campus* sede. Aos colegas da Farmácia Universitária da UFJF: Cristiane, Raphael, Silviane, Sônia, Josilene, Juliane, Vladimir, Nazarina, Vanessa, Gleyde, Dalyara, Leandro, Cybele e Maicon, que mesmo sendo recém chegada, sinto-me em casa e acolhida, obrigada por vibrarem comigo e me incentivarem tanto!

À UFJF, FINEP, FAPEMIG e CNPq que forneceram financiamento para aquisição dos insumos e/ou equipamentos utilizados neste projeto e bolsas de estudo.

Finalizo esse doutorado muito fortalecida, com o coração cheio de gratidão e com a frase de Santa Tereza D'Ávila:

“É justo que muito custe o que muito vale”.

RESUMO

Anemia falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia hereditária amplamente distribuída, resultante da mutação c.20A>T no gene HBB, que leva à alteração estrutural na beta-globina, p.Glu7Val, formando a hemoglobina S (HbS). A polimerização da HbS na AF provoca hemólise intravascular, estresse oxidativo e respostas inflamatórias, culminando em vaso-occlusão microvascular. Há relatos na literatura de que polimorfismos na região reguladora dos genes da alfa-globina, como o rs11865131 dentro do gene NPRL3, modulam a expressão dos genes HBA1/2 e anular o efeito da co-herança de alfa-talassemia (alfa-tal) sobre parâmetros hematológicos da AF. Os receptores ativados por proliferação de peroxissomos (PPARs) são fatores de transcrição que regulam uma série de genes associados à inflamação, estresse oxidativo, metabolismo hepático e de ácidos graxos e lipoproteínas, entre outras funcionalidades. Este estudo investigou a associação de polimorfismos nos genes de PPARs e da variante regulatória rs11865131 dos genes HBA1/2 com variáveis laboratoriais e clínicas em indivíduos com AF, controlando os efeitos da terapia com hidroxiureia (HU) e a presença de alfa-tal. As genotipagens foram realizadas por qPCR com sondas TaqMan® para os polimorfismos em genes de PPARs e rs11865131 e gapPCR para alfa-tal deletional. Dados laboratoriais e clínicos foram coletados de prontuários médicos e analisados por testes estatísticos apropriados considerando nível de significância 0,05. A pesquisa envolveu 110 indivíduos com AF nascidos entre 01/01/1998 e 31/12/2014 e acompanhados no Hemocentro Regional de Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil. Dos participantes, 53,6% eram do sexo masculino e 54,55% estavam em terapia com HU. Eventos clínicos no ano anterior incluíram crises algícas em 48,1%, internações em 24,32% e transfusões sanguíneas em 31,65%. Na análise de polimorfismos de PPARs, a variante A-rs4253747 de PPARA foi associada ao aumento de bilirrubina total, e a variante G-rs709158 de PPARG ao aumento de lactato desidrogenase, sugerindo que estas variantes podem influenciar a gravidade da AF uma vez que estão associados a marcadores hemolíticos. A terapia com HU melhorou marcadores da série vermelha e parâmetros lipídicos, reduzindo hemólise e inflamação. O impacto da terapia com HU foi mais significativo para a alteração de parâmetros lipídicos quando os indivíduos com AF portavam alelos específicos das variantes de PPAR. A co-herança de alfa-tal foi associada à redução da hemoglobina corpuscular média (HCM), mas sem impacto significativo nos parâmetros clínicos. A variante A-rs11865131, reguladora dos genes HBA1/2, aumentou hemoglobina somente no grupo com co-herança de alfa-tal sem afetar volume corpuscular médio e HCM e é fator de risco para marcadores de hemólise (bilirrubinas total e indireta). Este estudo destaca que variantes nos genes PPAR e o SNP rs11865131, regulador dos genes HBA1/2, afetam marcadores laboratoriais de gravidade na AF. A validação em populações maiores é essencial para confirmar estes achados e sua reprodutibilidade e associação a desfechos clínicos.

Palavras-chave: anemia falciforme, *HBA*, inflamação, *PPAR*, alfa-talassemia, hidroxiuréia.

ABSTRACT

Sickle cell anemia (SCA) is a widely distributed hereditary hemoglobinopathy resulting from the c.20A>T mutation in the *HBB* gene, which leads to a structural alteration in beta-globin, p.Glu7Val, forming hemoglobin S (HbS). The polymerization of HbS in SCA causes intravascular hemolysis, oxidative stress and inflammatory responses, culminating in microvascular vaso-occlusion. There are reports in the literature that polymorphisms in the regulatory region of the alpha-globin genes, such as rs11865131 within the *NPRL3* gene, modulate the expression of the *HBA1/2* genes and abrogate the effect of co-inheritance of alpha-thalassemia (alpha-thal) on hematological parameters of SCA. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) are transcription factors that regulate a series of genes associated with inflammation, oxidative stress, hepatic metabolism and fatty acids and lipoproteins, among other functions. This study investigated the association of polymorphisms in the PPAR genes and the regulatory variant rs11865131 of the *HBA1/2* genes with laboratory and clinical variables in individuals with SCA, controlling for the effects of hydroxyurea (HU) therapy and the presence of alpha-thal. Genotyping was performed by qPCR with TaqMan® probes for polymorphisms in PPAR genes and rs11865131 and gapPCR for deletional alpha-thal. Laboratory and clinical data were collected from medical records and analyzed by appropriate statistical tests considering a significance level of 0.05. The study involved 110 individuals with SCA born between 01/01/1998 and 12/31/2014 and followed at the Regional Blood Center of Governador Valadares, Minas Gerais, Brazil. Of the participants, 53.6% were male and 54.55% were on HU therapy. Clinical events in the previous year included painful crises in 48.1%, hospitalizations in 24.32% and blood transfusions in 31.65%. In the analysis of PPAR polymorphisms, the A-rs4253747 variant of *PPARA* was associated with increased total bilirubin, and the G-rs709158 variant of *PPARG* with increased lactate dehydrogenase, suggesting that these variants may influence the severity of AF since they are associated with hemolytic markers. HU therapy improved red blood cell markers and lipid parameters, reducing hemolysis and inflammation. The impact of HU therapy was more significant for the change in lipid parameters when individuals with AF carried specific alleles of the PPAR variants. Alpha-thal co-inheritance was associated with reduced mean corpuscular hemoglobin (MCH), but without significant impact on clinical parameters. The A-rs11865131 variant, which regulates *HBA1/2* genes, increased hemoglobin only in the group with alpha-thal co-inheritance without affecting mean corpuscular volume and MCH, and is a risk factor for hemolysis markers (total and indirect bilirubin). This study highlights that variants in the PPAR genes and the rs11865131 SNP, which regulates *HBA1/2* genes, affect laboratory markers of severity in SCA. Validation in larger populations is essential to confirm these findings and their reproducibility and association with clinical outcomes.

Keywords: sickle cell anemia, HBA, inflammation, PPAR, alpha-thalassemia, hydroxyurea.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Principais mecanismos fisiopatológicos da doença falciforme	24
Figura 2 - Mapa mundial das localizações da mutação da célula falciforme (HbS) e a temperatura média anual (em °C).	25
Figura 3 - Prevalência da anemia falciforme por faixa etária no Brasil em 2016	27
Figura 4 - Subfenótipos da AF e principais marcadores	28
Figura 5 - Vasculopatia cerebral na Anemia Falciforme.....	35
Figura 6 - Esquema do agrupamento dos genes da alfa-globina, localizados no cromossomo 16 e do agrupamento dos genes da beta-globina, localizado no cromossomo 11	43
Figura 7 - Representação gráfica da expressão temporal e local dos genes das cadeias globinas nas fases embrionária, fetal e adulta.....	44
Figura 8 - Região genômica abrangendo os genes <i>NPRL3</i> que contém a variante rs11865131 e sequências conservadas multi-espécies (MCS R1-4), genes <i>HBA1/HBA2</i> e a região de deleção - α 3.7Kb.....	47
Figura 9 - Ativação e principais funções de receptores ativados por proliferadores de peroxissomas (PPARs) em diferentes tecidos	48
Figura 10 - Interações entre AMPK e PPARs	49
Figura 11 - Interferência anti-inflamatória do PPAR γ , receptores toll-like (TLRs) e NF- κ B	50
Figura 12 - Mecanismo de aumento de hipertensão pulmonar na anemia falciforme desencadeado por PPAR- γ	52
Figura 13 - Localização cromossômica do gene <i>PPARA</i>	53
Figura 14 - Paisagem genômica de SNPs no gene <i>PPARG</i>	54
Figura 15 - Localização cromossômica do gene <i>PPARD</i>	55
Figura 16 - Fluxograma dos grupos de estudo para avaliação dos efeitos genéticos de dominância e recessividade dos polimorfismos dos genes analisados	71
Figura 17 - Fluxograma dos grupos e subgrupos de estudo para avaliar a interação da herança de alfa-tal e presença do polimorfismo rs11865131.....	72
Figura 18 - Gráfico de resultados de DTC no ano anterior ao início da pesquisa.....	77
Figura 19 - Distribuição das transfusões no ano anterior à pesquisa pelos participantes do estudo	78

Figura 20 - Resultado gráfico ilustrativo de uma das análises de genotipagem por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR).....	81
Figura 21 - Fotografia do gel de agarose da genotipagem de alfa-tal em indivíduos com anemia falciforme.....	82
Figura 22 - Representação gráfica das análises dos genótipos da variante regulatória rs11865131 dos genes HBA1/HBA2 em relação aos níveis de hematócrito e hemoglobina dos participantes do estudo.....	123
Figura 23: Esquema apontando mecanismos de modulação da atividade de PPAR α pelos eixos HO-1-bilirrubina-PPAR α -UGT e HIF-PPAR α	152
Figura 24: Conexões das atividades reconhecidas de PPARA, da variante A-rs4253747 de PPARA, dos eixos HO-1-bilirrubina-PPAR α -UGT e HIF-PPAR α e dos resultados encontrados no nosso estudo.....	153
Figura 25: Esquema indicando ações reconhecidas do PPAR γ e das variantes rs10865710 e rs709158 de PPARG, nossos achados e hipóteses	157
Figura 26: Resumo de resultados encontrados neste estudo e na literatura da co-herança de alfa-tal, da variante reguladora dos genes HBA1/HBA2 rs11865131 e da interação de ambas....	161

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Valores de média e desvio padrão de variáveis hematológicas de indivíduos em terapia e sem terapia de HU; diferença encontrada entre as médias; número de indivíduos encontrados a partir do cálculo amostral; acréscimo de 10% no valor do n; valor final.....	70
Tabela 2 - Valores adotados nas análises de regressão baseados em valores de referência.....	75
Tabela 3 - Características demográficas e laboratoriais dos participantes com anemia falciforme	76
Tabela 4 – Dados dos indivíduos que realizaram o Doppler Transcraniano (DTC) no ano anterior ao início da pesquisa	77
Tabela 5 – Eventos clínicos da população avaliados no ano anterior ao início do estudo	78
Tabela 6 – Períodos de tratamento e doses de HU nos participantes do estudo.....	79
Tabela 7 - Análises descritivas de associação e magnitude de efeito entre as variáveis hematológicas, bioquímicas e clínica em relação à terapia de HU nos participantes do estudo	79
Tabela 8 - Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos na população de estudo	81
Tabela 9 - Distribuição de genótipos de alfa-tal (alelo $\alpha^{-3.7Kb}$) na população estudada.....	82
Tabela 10 - Distribuição de genótipos de NPRL3 rs11865131 levando em consideração alfa-tal (alelo $\alpha^{-3.7 Kb}$)	83
Tabela 11 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação a crise algica, no modelo genético de dominância para os polimorfismos de PPARA rs4253747, PPARG rs10865710 e rs709158, PPARD rs2016520 e NPRL3 rs11865131, ou a co-herança de alfa-tal, ajustados para terapia com HU, sexo e idade.....	83
Tabela 12 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação a internação, no modelo genético de dominância para os polimorfismos de PPARA rs4253747, PPARG rs10865710 e rs709158, PPARD rs2016520 e NPRL3 rs11865131, ou a co-herança de alfa-tal, ajustados para terapia com HU, sexo e idade.....	86
Tabela 13 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação a VMM, no modelo genético de dominância para os polimorfismos PPARA rs4253747, PPARG rs10865710 e rs709158, PPARD rs2016520 e NPRL3 rs11865131, ou a co-herança de alfa-tal, ajustados para terapia com HU, sexo e idade.....	89
Tabela 14 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação a transfusão, no modelo genético de dominância para os polimorfismos de PPARA rs4253747, PPARG rs10865710 e rs709158, PPARD rs2016520 e NPRL3 rs11865131, ou a co-herança de alfa-tal, ajustados para terapia com HU, sexo e idade.....	91
Tabela 15 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação a regime de transfusão, no modelo genético de dominância para os polimorfismos de PPARA rs4253747, PPARG	

rs10865710 e rs709158, PPARD rs2016520 e NPRL3 rs11865131, ou a co-herança de alfa-tal, ajustados para terapia com HU, sexo e idade	94
Tabela 16 - Correlação dos parâmetros hematológicos dos indivíduos com anemia falciforme com as variantes e ajustado para terapia com HU	97
Tabela 17 - Correlação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos dos indivíduos com anemia falciforme com as variantes e ajustado para terapia com HU	97
Tabela 18 - Correlação dos parâmetros lipídicos e velocidade média máxima dos indivíduos com anemia falciforme com as variantes e ajustado para terapia com HU	97
Tabela 19 - Avaliação do efeito genético de dominância do alelo de menor frequência da variante rs4253747 do gene PPARA nos parâmetros laboratoriais.....	98
Tabela 20 - Avaliação do efeito genético de recessividade do alelo de menor frequência da variante rs4253747 do gene PPARA nos parâmetros laboratoriais.....	100
Tabela 21 - Análise por regressão dos indivíduos com AF em relação aos níveis de BT, BI e Plaquetas no modelo genético de dominância para o rs 4253747 de PPARA ajustado para terapia com HU, sexo e idade.....	102
Tabela 22 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de monócitos, reticulócitos e APOB no modelo genético de recessividade para o rs 4253747 de PPARA e ajustado para sexo, terapia com HU e idade.....	104
Tabela 23 - Avaliação do efeito de dominância do alelo de menor frequência da variante rs10865710 do gene PPARG nos parâmetros laboratoriais	106
Tabela 24 - Avaliação do efeito de recessividade do alelo de menor frequência da variante rs10865710 do gene PPARG nos parâmetros laboratoriais	108
Tabela 25 – Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de monócitos no modelo genético de recessividade para o rs10865710 de PPARG e ajustado para sexo, terapia com HU e idade	109
Tabela 26 – Avaliação do efeito de dominância do alelo de menor frequência da variante rs709158 do gene PPARG nos parâmetros laboratoriais.....	110
Tabela 27 - Avaliação do efeito de recessividade do alelo de menor frequência da variante rs709158 do gene PPARG nos parâmetros laboratoriais.....	112
Tabela 28 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de hemoglobina fetal, plaquetas, Velocidade Média Máxima e LDH no modelo genético de dominância para o rs709158 de <i>PPARG</i> , ajustado para sexo, terapia com HU e idade.....	114
Tabela 29 - Avaliação do efeito de dominância do alelo de menor frequência da variante rs2016520 do gene PPARD nos parâmetros laboratoriais	115
Tabela 30 - Avaliação do efeito de recessividade do alelo de menor frequência da variante rs2016520 do gene PPARD nos parâmetros laboratoriais	117

Tabela 31- Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de monócitos no modelo genético de dominância para o rs2016520 de PPARD, ajustado para sexo, terapia com HU e idade	118
Tabela 32 - Comparação dos perfis bioquímico e hematológico dos indivíduos com AF e co-herança de alfa-tal.....	119
Tabela 33 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de HCM, VCM e LDH em relação a co-herança de alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade	121
Tabela 34 - Análise dos genótipos da variante rs11865131 do gene NPRL3 em todos os participantes do estudo	123
Tabela 35 - Avaliação do efeito de dominância do alelo de menor frequência da variante rs11865131 de NPRL3 nos parâmetros laboratoriais	124
Tabela 36 - Avaliação do efeito de recessividade do alelo de menor frequência da variante rs11865131 do gene NPRL3 nos parâmetros laboratoriais	126
Tabela 37 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de bilirrubina total (BT), bilirrubina indireta (BI), Apolipoproteína A1 (APOA1) e hemoglobina (Hb) quanto a presença de polimorfismo rs11865131 de NPRL3, ajustado para sexo, terapia com HU e idade	128
Tabela 38 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de hemoglobina no modelo genético de recessividade para o rs11865131 ajustado para sexo, terapia com HU e idade	130
Tabela 39 - Análise do efeito dos genótipos do polimorfismo rs11865131 do gene NPRL3 na ausência de alfa-tal no modelo de dominância sobre os parâmetros laboratoriais.....	131
Tabela 40 - Interação da co-herança de alfa-tal e polimorfismo rs11865131 do gene NPRL3 no modelo de efeito de dominância nos parâmetros laboratoriais.....	133
Tabela 41 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de Hemoglobina (Hb) no modelo genético de dominância para o rs11865131 NPRL3 e alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade	135
Tabela 42 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de hematócrito (Ht) no modelo genético de dominância para o rs11865131 NPRL3 e alfa-talassemia ajustado para sexo, terapia com HU e idade	136
Tabela 43 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de bilirrubina total (BT) no modelo genético de dominância para o rs11865131 NPRL3 e alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade.....	137
Tabela 44 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de bilirrubina indireta (BI) no modelo genético de dominância para o rs11865131 NPRL3 e alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade.....	138

Tabela 45 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de Apolipoproteína A1 (APOA1) no modelo genético de dominância para o rs11865131 e alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade	139
Tabela 46 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de HCM no modelo genético de dominância para o rs11865131 e alfa-talassemia ajustado para sexo, terapia com HU e idade	141
Tabela 47 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de VCM no modelo genético de dominância para o rs11865131 e alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade	142
Tabela 48 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de LDH no modelo genético de dominância para o rs11865131 e alfa-talassemia ajustado para sexo, terapia com HU e idade	143
Tabela 49 - Análises descritivas e de associação entre as variáveis hematológicas e bioquímicas dos grupos por idade e terapia com HU	189
Tabela 50 - Avaliação do efeito genético de dominância dos alelos de menor frequência das variantes rs4253747 de PPARA, rs709158 e rs10865710 de PPARG, rs2016520 de PPAR, alfa-tal, rs11865131 de NPRL3, rs11865131 de NPRL3 na ausência de alfa-tal e rs11865131 de NPRL3 na presença de alfa-tal nos valores de velocidade média máxima	192
Tabela 51 - Avaliação do efeito genético de recessividade dos alelos de menor frequência das variantes rs4253747 de PPARA, rs709158 e rs10865710 de PPARG, rs2016520 de PPAR, alfa-tal, rs11865131 de NPRL3, rs11865131 de NPRL3 na ausência de alfa-tal e rs11865131 de NPRL3 na presença de alfa-tal nos valores de velocidade média máxima	193
Tabela 52 - Análises de associação entre os genótipos da variante rs4253747 do gene PPARA, comparando os grupos sem terapia e em terapia com HU	194
Tabela 53 - Análises de associação entre dos genótipos da variante rs10865710 do gene PPARG, comparando os grupos sem ou em terapia com HU	196
Tabela 54 - Análises de associação entre os genótipos da variante rs709158 do gene PPARG, comparando os grupos sem ou em terapia com HU	198
Tabela 55 - Análises de associação entre os genótipos da variante rs2016520 do gene PPAR, comparando os grupos sem terapia ou em terapia com HU	200
Tabela 56 - Análises de associação entre co-herança de alfa-tal, comparando os grupos sem ou em terapia com HU	202
Tabela 57 - Análises de associação entre genótipos da variante rs11865131 do gene NPRL3, comparando os grupos sem ou em terapia com HU	204

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Subfenótipos da AF e principais características com relação a HbF e alfa-tal	29
Quadro 2 - Marcadores e quadro clínico dos subfenótipos de disfunção hemólise endotelial (HED) e viscosidade/vaso-oclusão (VVO).....	29
Quadro 3 - Mediadores inflamatórios, eventos e reagentes de fase aguda elevados na Doença Falciforme.....	33
Quadro 4 - Terapias em avaliação para o tratamento da doença falciforme	39
Quadro 5 - Resumo de ações dos genes de PPAR.....	53
Quadro 6 – Associação entre os polimorfismos nos genes dos Receptores Ativados por Proliferação de Peroxissomos (PPAR) selecionados para o presente estudo (rs4253747 de PPARA, rs10865710 e rs709158 de PPARG e rs2016520 de PPARD).	56
Quadro 7 - Dados dos SNPs avaliados nas genotipagens por discriminação alélica em qPCR	64
Quadro 8 - Descrição das variantes dos genes NPRL3, PPARA, PPARG e PPARD selecionados para o estudo	64
Quadro 9 - Dados dos oligonucleotídeos utilizados na reação de genotipagens da alfa-tal.....	65
Quadro 10 - Informações sobre análises laboratoriais e clínicas.....	67
Quadro 11 - Compilação dos achados estatísticos significativos com as variantes de PPARs, rs11865131 e co-herança de alfa-talassemia nos indivíduos com anemia falciforme.....	144

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
<	Menor
>	Maior
≤	Menor ou igual
≥	Maior ou igual
°C	Graus Celsius
∞	Infinito
ACI	Artérias carótidas internas distais
ACM	Artérias cerebrais médias
AF	Anemia falciforme
Alfa-tal	Alfa-talassemia
ALT	Alanina aminotransferase
APOA1	Apolipoproteína A1
APOB	Apolipoproteína B
AST	Aspartato aminotransferase sérica
AVC	Acidente vascular cerebral
AVE	Acidente vascular encefálico
BD	Bilirrubina direta
BH	Belo Horizonte
BI	Bilirrubina indireta
BT	Bilirrubina total
CAAE	Certificado de apresentação para apreciação ética
CEP	Comitê de ética em pesquisa
cm/s	Centímetros por segundo
CNPq	Conselho nacional de desenvolvimento científico e tecnológico
CT	Colesterol total
d	Magnitude de efeito
DAC	Doença cardiovascular aterosclerótica
DF	Doença falciforme
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dp	Desvio padrão
DTC	Doppler transcraniano
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético, do inglês <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>
EHW	Equilíbrio de Hardy Weinberg, do inglês <i>Hardy-Weinberg equilibrium</i>
<i>EPO</i>	Eritropoietina
ET-1	Endotelina-1
ERO	Espécies reativas do oxigênio ou ROS, do inglês <i>reactive oxygen species</i>
FAPEMIG	Fundação de amparo à pesquisa do Estado de Minas Gerais
Fe	Ferro
Ferr	Ferritina
FINEP	Financiadora de estudos e projetos
fl	Fentolitro
g/dL	Gramas por decilitro
gDNA	DNA genômico
Glu7Val	Aminoácido ácido glutâmico substituído por um aminoácido valina na posição 7

GV	Governador Valadares
GWAS	Estudo de associação genômica ampla, do inglês <i>Genome wide association studies</i>
Hb	Hemoglobina
HbA	Hemoglobina A
HbF	Hemoglobina fetal
HbS	Hemoglobina S
HbSS	Homoziгоze para hemoglobina S, indica anemia falciforme
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HED	Disfunção hemólise endotelial
HIF	Fatores induzíveis por hipóxia, do inglês <i>hypoxia-inducible factors</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana, do inglês <i>human immunodeficiency virus</i>
HO-1	Heme oxigenase 1
HP	Hipertensão pulmonar
HRGV	Hemocentro regional de Governador Valadares
Ht	Hematócrito
HU	Hidroxiureia
IC	Intervalo de confiança
IL	Interleucina
LDH	Lactato desidrogenase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LG	Leucometria global
MAF	Alelo de menor frequência, do inglês <i>minor allele frequency</i>
mg	Miligrama
mg/kg/dia	Miligrama por quilo por dia
Mín	Mínimo
Máx	Máximo
mL	Mili litro
mM	Mili molar
mm ³	Milímetro cúbico
Mon	Monócitos
MS	Ministério da saúde
n	Número de indivíduos
Neu	Neutrófilos
NF-κB	Fator nuclear kappa B
ng/μL	Nanograma por microlitro
NHDL	Não lipoproteína de alta densidade
NHU	Sem terapia com hidroxiuréia
nm	Nanômetro
NO	Óxido nítrico
NR	Análise não realizada
NUPAD	Núcleo de pesquisa em apoio diagnóstico
OMS	Organização mundial de saúde
OR	Razão de chances (do inglês <i>odds ratio</i>)
p	Significância estatística
p[χ ²]	Valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão
pb	Pares de bases
PCDT	Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas

PCR	Proteína C reativa
PCR	Reação em cadeia da polimerase, do inglês <i>polymerase chain reaction</i>
PETN-MG	Programa estadual de triagem neonatal de Minas Gerais
pg	Picograma
Pla	Plaquetas
PNTN	Programa nacional de triagem neonatal
PPARs	Receptores ativados por proliferação de peroxissomo
<i>PPARA/G/D</i>	Genes <i>PPARA</i> , <i>PPARG</i> ou <i>PPARD</i>
<i>PPARα/γ/δ</i>	Proteínas codificadas pelos genes <i>PPARA</i> , <i>PPARG</i> ou <i>PPARD</i> .
qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa, do inglês <i>quantitative polymerase chain reaction</i>
Ret	Reticulócitos
SNV	Variante de nucleotídeo único, do inglês <i>single nucleotide variant</i>
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único, do inglês <i>single nucleotide polymorphism</i>
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
STA	Síndrome torácica aguda
SUS	Sistema único de saúde
TAE	Solução tampão de tris, ácido acético e EDTA
TALE	Termo de assentimento livre e esclarecido
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TE	Solução de tris e EDTA
TG	Triglicerídeos
TNFA	Fator de necrose tumoral A
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
UFJF-GV	Universidade Federal de Juiz de Fora <i>campus</i> Governador Valadares
UFVJM	Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
UGT	Uridina-difosfoglucuronato glucuronosiltransferases
VCAM-1	Molécula de adesão de células vasculares-1
VCM	Volume corpuscular médio
VMM	Velocidade média máxima
VR	Valores de referência
VVO	Viscosidade e vaso oclusão
α	Alfa
$\alpha^{-3,7 \text{ Kb}}$	Deleção de 3.7 kilobases nos genes <i>HBA</i>
$\alpha^{-4.2 \text{ Kb}}$	Deleção de 4.2 kilobases nos genes <i>HBA</i>
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
$\mu\text{g/dL}$	Micrograma por decilitro
μL	Microlitros
μm	Micrômetro
χ^2	Teste de hipótese qui-quadrado

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	5
RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	20
2. REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1 ETIOLOGIA DA ANEMIA FALCIFORME.....	23
2.2 EPIDEMIOLOGIA.....	25
2.3 FISIOPATOLOGIA E SUBFENÓTIPOS DA ANEMIA FALCIFORME	27
2.3.1 Hemólise e Subfenótipo de disfunção hemólise endotelial (HED)	30
2.3.2 Vaso-oclusão e Subfenótipo viscosidade/vaso-oclusão (VVO)	31
2.3.3 Dislipidemia e Subfenótipo Dislipidêmico	36
2.4 TRATAMENTOS DA ANEMIA FALCIFORME	37
2.5 MODIFICADORES DA ANEMIA FALCIFORME	40
2.5.1 Hemoglobina fetal como modificadora da anemia falciforme	41
2.5.2 Haplótipos de beta-globina como modificadores da anemia falciforme	42
2.5.3 Alfa talassemia como modificadora da anemia falciforme	42
2.5.4 Outros modificadores da anemia falciforme	47
2.6 RECEPTORES ATIVADOS POR PROLIFERAÇÃO DE PEROXISSOMOS (PPAR)	47
2.6.1 Gene <i>PPARA</i> e polimorfismo rs4253747	53
2.6.2 Gene <i>PPARG</i> e polimorfismos rs10865710 e rs709158	54
2.6.3 Gene <i>PPARD</i> e polimorfismo rs2016520.....	55
3. OBJETIVOS	60
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	60
4. MATERIAL E MÉTODOS	61
4.1 POPULAÇÃO ESTUDADA E ASPECTOS ÉTICOS	61
4.1.1 Critérios de exclusão do estudo	62

4.2 ANÁLISES MOLECULARES	62
4.2.1 Genotipagens dos polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs)	63
4.2.2 Genotipagem de Alfa talassemia	64
4.3 BANCO DE DADOS LABORATORIAL E CLÍNICO	66
4.4 CÁLCULO AMOSTRAL	69
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	70
4.5.1 Programas Estatísticos.....	73
4.6 FINANCIAMENTO.....	75
5. RESULTADOS	76
5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME	77
5.2 INFLUÊNCIA DA TERAPÊUTICA COM HIDROXIUREIA NOS PERFIS LABORATORIAIS DOS INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME.....	78
5.3 GENOTIPAGENS DOS SNPs DE <i>PPARs</i> , <i>NPRL3</i> E DE ALFA-TALASSEMIA	80
5.4 ANÁLISES DOS SNPs DE <i>PPARs</i> E <i>NPRL3</i> E DE ALFA-TALASSEMIA COM DADOS CLINICOS	83
5.4.1 Análises de Regressão Logística Binária ou Binária Múltipla das variantes gênicas com Variáveis Clínicas.....	83
5.4.2 Correlação parcial dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e velocidade média máxima do doppler transcraniano com os polimorfismos ajustado para terapia com HU	96
5.5 ANÁLISES DO SNP rs4253747 (T/A) DE <i>PPARA</i> COM VARIÁVEIS LABORATORIAIS	98
5.6 ANÁLISES DO SNP rs10865710 (C/G) DE <i>PPARG</i> COM PARÂMETROS LABORATORIAIS.....	106
5.7 ANÁLISES DO SNP rs709158 (A/G) DE <i>PPARG</i> COM PARÂMETROS LABORATORIAIS	110
5.8 ANÁLISES DO SNP rs2016520 (T/C) DE <i>PPARD</i> COM PARÂMETROS LABORATORIAIS.....	115
5.9 ANÁLISES DA CO-HERANÇA DE ALFA-TAL COM PARÂMETROS LABORATORIAIS	119
5.10 ANÁLISES DO SNP rs11865131 (G/A) DE <i>NPRL3</i> COM PARÂMETROS LABORATORIAIS	123

5.11 INTERAÇÃO DA CO-HERANÇA DE ALFA-TAL E PRESENÇA DO SNP rs11865131 DE <i>NPRL3</i>	131
6. DISCUSSÃO	146
6.1. PERFIL CLÍNICO E LABORATORIAL DA POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	146
6.2 ASSOCIAÇÕES SIGNIFICATIVAS DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS COM PARÂMETROS LABORATORIAIS	149
7. CONCLUSÃO.....	163
REFERÊNCIAS	164
APÊNDICE A	189
APÊNDICE B.....	192
APÊNDICE C	193
APÊNDICE D	194
APÊNDICE E.....	196
APÊNDICE F.....	198
APÊNDICE G	200
APÊNDICE H	202
APÊNDICE I.....	204

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Há uma alta prevalência de doença falciforme (DF) no mundo e no Brasil é a doença genética mais comum, destacando-se a região nordeste, principalmente o Estado da Bahia por acumular 24,02% (51% de AF) das hemoglobinopatias do Brasil (Brasil, 2021; Carvalho *et al.*, 2014). O Estado de Minas Gerais ocupa o segundo lugar em prevalência da doença, acumulando 22,52% (72,38% de AF) das hemoglobinopatias do Brasil (Brasil, 2021). Em Governador Valadares a prevalência é 0,03% (Januário, 2002).

A DF compreende um grupo de hemoglobinopatias hereditárias decorrentes de mutações estruturais no gene *HBB* codificador de globina beta (loco 11p15.4; MIM 141900) (Amaral *et al.*, 2015; Carvalho *et al.*, 2014; Felix *et al.*, 2010; Sabarense *et al.*, 2015). A anemia falciforme (AF), causada pela homozigose da mutação HbS (c.20A>T; p.Glu7Val), é a forma mais grave da DF. Essa mutação gera um defeito estrutural e conformacional na cadeia beta-globina e acarreta a formação de hemoglobina S (HbS). A heterozigose do alelo HbS com o alelo normal (HbAS) caracteriza o traço falciforme (AS), que apresenta poucas intercorrências clínicas (Azar; Wong, 2017).

A presença de HbS nas hemácias, sob baixa tensão de oxigênio leva a polimerização das HbS levando a falcização das hemácias, desencadeando intensa hemólise, disfunção hemólise endotelial, fenômenos vaso-oclusivos e inflamatórios. As manifestações clínicas mais comuns são anemia hemolítica, crises vaso-oclusivas, dactilite, hipofunção ou sequestro esplênico e grande suscetibilidade às infecções. Manifestações de maior gravidade incluem a síndrome torácica aguda (STA), acidente vascular encefálico (AVE), problemas cognitivos não associados ao AVE, priapismo e comprometimento de vários órgãos, como os rins, pulmões e olhos (Aboderin *et al.*, 2023).

O principal tratamento medicamentoso no Brasil é a hidroxiureia (HU), a qual reduz significativamente a incidência de hospitalização, as crises de dor aguda, STA e a frequência de transfusão em pacientes com DF e pode fornecer uma alternativa à terapia de transfusão crônica em um subconjunto de pacientes com Doppler transcraniano (DTC) anormal e com risco de AVE (Bernaudin *et al.*, 2016; Charache *et al.*, 2016). Outros benefícios reconhecidos do tratamento com a HU são o aumento dos níveis de hemoglobina fetal (HbF) e redução da contagem de neutrófilos. Além disso, HU não parece estar associada a efeitos adversos graves e de risco de vida e pode ser eficaz na prevenção de primeiros AVCs para aqueles com risco aumentado de AVC (Rankine-Mullings; Nevitt, 2022).

A AF é classificada em subfenótipos, sendo os dois principais o chamado disfunção hemólise endotelial (HED) e de viscosidade e vaso oclusão (VVO), um terceiro subfenótipo, menos utilizado é o dislipidêmico (Aleluia *et al.*, 2017). Devido à variação no grau desses subfenótipos e a fatores modificadores genéticos e ambientais, as manifestações clínicas da DF são substancialmente heterogêneas (Bender, 2017). Dentre os fatores genéticos que diretamente reduzem o equilíbrio das cadeias de alfa-globina, estão os níveis de HbF e a co-herança da alfa-talassemia (alfa-tal) (MIM: 604131) (Habara, Steinberg, 2016; Hariharan *et al.*, 2021). As crianças costumam ser assintomáticas nos primeiros seis meses de vida em razão da proteção oferecida pela diminuição da falcização das hemácias proporcionada pela HbF, que representa até 80% da Hb total nessa faixa etária (Soares *et al.*, 2014). Nos meses subsequentes, a HbF vai sendo substituída pela HbS e assim os sintomas clínicos se desenvolvem.

Entre os estudos que associam a co-herança de alfa-tal com os subfenótipos indicadores de gravidade clínica da AF há ainda pouco consenso e os achados carecem de replicação nas populações. Há estudos que mostram efeitos protetores, em indivíduos com AF e co-herança de alfa-tal, principalmente na vasculopatia cerebral e no infarto isquêmico (Belisário *et al.*, 2010b) e cerebral silencioso (Brewin *et al.*, 2021), outras complicações relacionadas a vaso-oclusão (Belisário *et al.*, 2010a; Brewin *et al.*, 2021) e melhora na sobrevida dos indivíduos (Rumaney *et al.*, 2014). Outros estudos associam a co-herança de alfa-tal com o aumento da frequência de dor (Darbari *et al.*, 2012; Renoux *et al.*, 2017). Portanto, outros fatores moduladores genéticos epistáticos ou ambientais podem ser explicativos desses achados conflitantes observados na co-herança da alfa-tal na AF. Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) localizados na região controladora do *locus* dos genes de alfa-globina HS-40 / MCS-R2 a montante dos genes *HBA* (16p13.3) foram associados a modificação dos efeitos hematológicos da alfa-tal e algumas complicações clínicas na AF (Raffield *et al.*, 2018). Portanto, a investigação da interação entre a herança de alfa-tal e polimorfismos regulatórios dos genes *HBA* em condições de tratamento terapêutico com HU poderia fornecer suporte adicional, refutar ou expandir os achados existentes para esclarecer os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na AF. Além disso, tais estudos poderiam contribuir para o prognóstico e o manejo dessa condição.

A hipertensão pulmonar (HP) é relativamente comum em pacientes adultos com DF, particularmente àqueles com AF. Os Receptores Ativados por Proliferação de Peroxissomos (PPARs), fatores de transcrição regulados por ligantes, foram associados ao desenvolvimento de HP em modelos animais. A estimulação do PPAR- γ , uma das isoformas de PPAR, com agonistas do tipo tiazolidionas atenuou a HP em modelos experimentais (Kim *et al.*, 2010;

Nisbet *et al.*, 2010), enquanto a expressão reduzida de PPAR- γ foi associada à patogênese da HP (Guignabert *et al.*, 2009; Hansmann *et al.*, 2008). Tais evidências sugerem que PPAR- γ pode ser um alvo terapêutico para tratamento da HP na AF (Kang *et al.*, 2017). As ações biológicas dos PPARs e eficácia como alvo terapêutico no tratamento da AF permanecem com escassa investigação, limitados a HP em modelos animais. Variantes genéticas em genes de *PPAR* podem modular a expressão gênica de diversos processos biológicos e influenciar a gravidade de doenças crônicas. Como há influência destes SNPs em outras doenças crônicas, é possível que os subfenótipos da AF, a hemólise e a inflamação, sejam também modificados como visto com outros genes. Encontramos uma lacuna de estudos que envolvam associação entre as variantes gênicas de *PPARs* e as variáveis hematológicas, bioquímicas e clínicas em indivíduos com AF, bem como o efeito desses SNPs na terapia com HU.

Uma de nossas hipóteses é de que as variantes nos genes de PPARs modificam os parâmetros hemolíticos, vaso-oclusivos, inflamatórios, influenciando nos desfechos clínicos da AF, visto que os PPARs regulam uma série de genes associados a estes mecanismos. A segunda hipótese é de que modificadores de expressão de genes *HBA*, que abolem os efeitos hematológicos de alfa-tal, modulam eventos clínicos da AF. Deste modo, o conhecimento do efeito destas variantes poderia identificar marcadores prognósticos para estratificação dos riscos e direcionar condutas terapêuticas efetivas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Uma breve revisão da literatura será apresentada a seguir, com os pontos fundamentais para o entendimento da etiologia, epidemiologia, fisiopatologia, tratamento e as conexões da AF com PPARs e alfa-tal.

2.1 ETIOLOGIA DA ANEMIA FALCIFORME

A anemia falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia hereditária caracterizada pela herança do alelo S em homozigose, que constitui a forma mais comum e, geralmente, mais grave das doenças falciformes (DF) (Rees, Brousse, Brewin, 2022).

A mutação de transversão, não sinônima no éxon 1 no gene *HBB* (loco 11p15.4; Omim 141900), que codifica a beta-globina, leva à formação de uma hemoglobina (Hb) mutante, denominada Hemoglobina S (HbS) (Ren *et al.*, 2017). A HbS é constituída de duas cadeias alfa-globinas normais e duas cadeias beta-globinas que apresentam uma alteração estrutural na qual o resíduo de aminoácido polar ácido glutâmico (Glu) foi substituído por um resíduo hidrofóbico de valina (Val) na posição 7 da cadeia polipeptídica (c.20A>T; SNP rs334; p.Glu7Val) (Omim, 2022e; Weatherall, 2011).

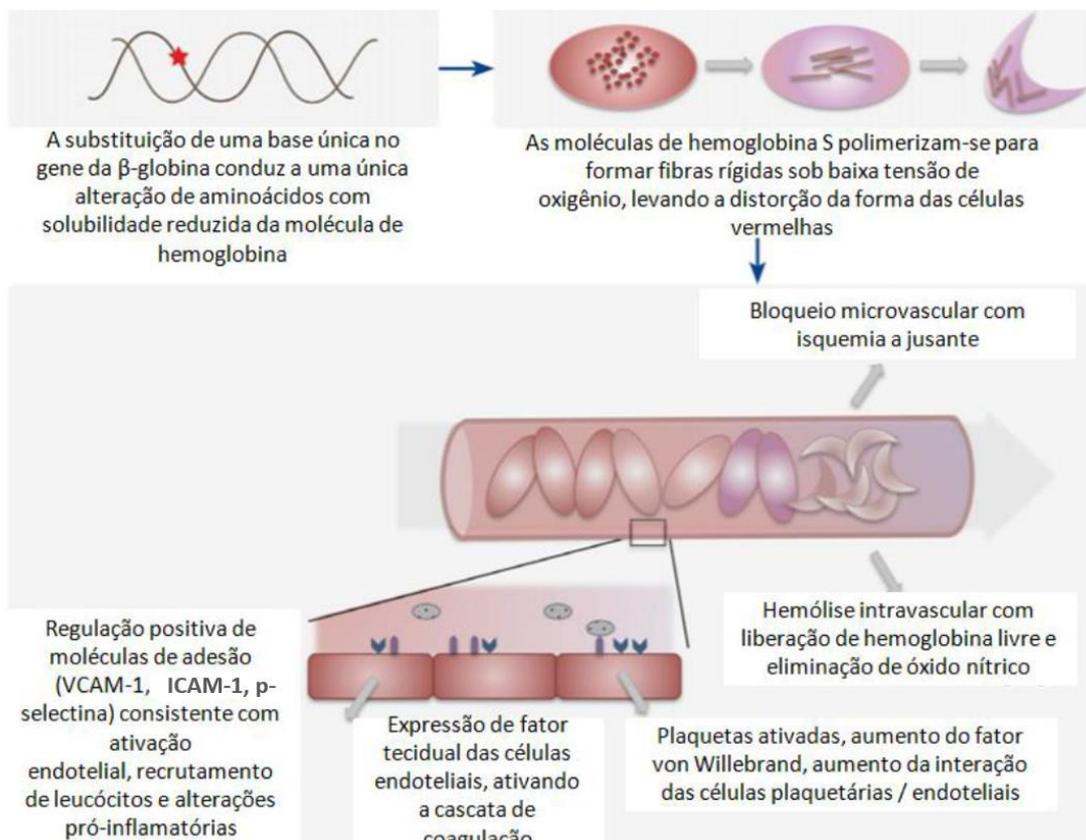
A mutação leva a alterações na carga líquida da molécula de Hb (Roberts-Harewood, 2009), permitindo a formação de interações intermoleculares estáveis (polímeros lineares dos tetrâmeros de Hb) entre as cadeias de desoxihemoglobina S (Lux; John; Karnovsky, 1976; Schechter, 2008). A modificação é orientada diretamente pelo resíduo de valina substituído que se liga a uma região hidrofóbica entre um resíduo de fenilalanina e um resíduo de leucina na cadeia β globina vizinha (Azar; Wong, 2017).

A HbS está em solução quando oxigenada, assim como a HbA. Entretanto, quando desoxigenada, a HbA permanece solúvel, enquanto a HbS se polimeriza (Azar; Wong, 2017). Essa polimerização inicia a fisiopatologia da doença por lesão do eritrócito falciforme (Steinberg *et al.*, 2019). Também ocorre a diminuição da capacidade da HbS fixar o oxigênio (Azar; Wong, 2017; Ramos *et al.*, 2015), assim como aumento da fragilidade das hemácias, hemólise e obstrução microvascular (Ren *et al.*, 2017).

As hemácias passam por ciclos de oxigenação e desoxigenação, fazendo com que os polímeros de HbS danifiquem repetidamente a membrana (Quinn, 2016) pelo aumento da viscosidade citoplasmática, induzido pelos vazamentos de cátions através da membrana, o que provoca desidratação e aumenta a expressão de moléculas de adesão (Rees; Willians; Gladwin,

2010). A desidratação das hemácias é importante para a polimerização da HbS, levando à formação irreversível de hemácias em forma de foice (Ellory, 2015), células adesivas e células densas (Steinberg *et al.*, 2019). Os co-transportadores de cloreto de potássio (KCC), presentes na membrana da hemácia, transportam os íons cloreto (Cl⁻) e potássio (K⁺) para fora da célula juntamente com o efluxo de água, colaborando com o quadro de desidratação decorrente da polimerização da HbS (Ellory, 2015). Além disso, as alterações afetam os componentes lipídicos e proteicos da membrana da hemácia falciforme e alteram a interação com leucócitos, plaquetas e endotélio vascular (Azar; Wong, 2017). As células endoteliais sofrem alterações, gerando regulação positiva de várias moléculas de adesão, incluindo E-selectina, P-selectina e molécula de adesão de células vasculares-1 (VCAM-1) (Azar; Wong, 2017). Há ativação dos leucócitos e plaquetas que então secretam várias citocinas e quimiocinas as quais promovem a inflamação e obstrução da vasculatura, prejudicando o endotélio. A hemólise crônica libera grandes quantidades de hemoglobina livre, que se liga ao óxido nítrico (NO), levando a manifestações amplas que afetam a maioria dos órgãos vitais (Bender, 2017; Zhang *et al.*, 2016). A Figura 1 ilustra os principais mecanismos fisiopatológicos da AF.

Figura 1 - Principais mecanismos fisiopatológicos da doença falciforme



Nota: A alteração genética na anemia falciforme resulta em uma molécula de hemoglobina que é menos solúvel do que o normal em condições hipóxicas. As moléculas de hemoglobina polimerizadas causam

a formação de tactóides insolúveis, que resultam na distorção característica da hemácia na forma falciforme. Ocorrem vaso-oclusão recorrente, isquemia e dano de reperfusão. Estudos também demonstraram aumento da expressão de marcadores de ativação de células endoteliais, plaquetas e cascata de coagulação, gerando um cenário pró-inflamatório. A presença de hemólise intravascular também libera hemoglobina livre que é capaz de degradar o óxido nítrico - um regulador chave da reatividade e do tônus vascular normal.

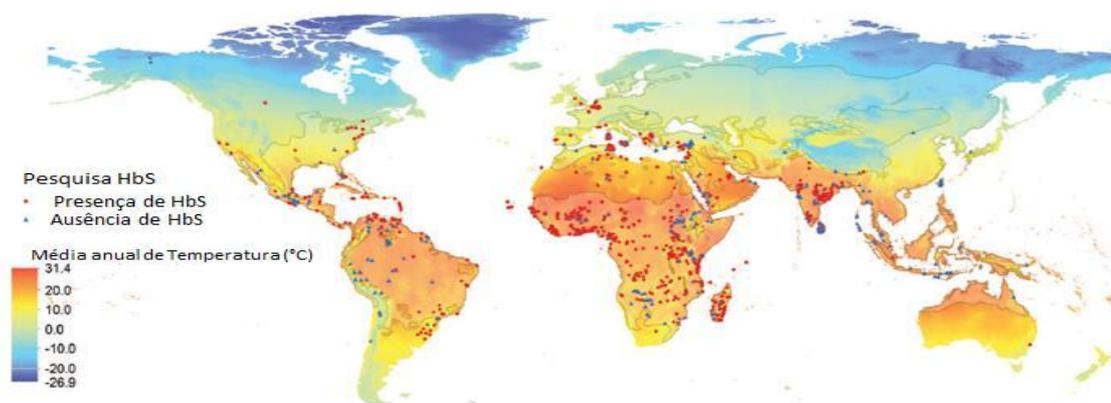
Fonte: adaptado de Hay; Atoyebi, 2016.

2.2 EPIDEMIOLOGIA

A DF é a doença monogênica mais comum e amplamente distribuída no mundo (Weatherall, 2011), com a prevalência global estimada de nascimento de indivíduos com AF em 0,11%, ao passo que na região africana, a prevalência de nascimentos com essa condição é 1,1% (Wastnedge *et al.*, 2018). Acredita-se que a mutação que leva a formação de HbS tenha surgido na África, como resultado da vantagem conferida aos indivíduos que possuíam apenas o traço falcêmico em relação à resistência à malária (McGann, 2014; Tewari *et al.*, 2015).

O alelo HbS pode ser encontrado em grande parte do mundo, entretanto, é mais frequente em regiões de clima mais quente (Figura 2) (Tewari *et al.*, 2015). A doença se espalhou no Brasil em decorrência da imigração de negros africanos advindos do período colonial de escravidão no país (Silva *et al.*, 2013), visto que a HbS é mais frequente na população africana. Dessa forma, a imigração favoreceu a miscigenação dos povos, o que levou à dispersão dos alelos causadores da DF, tornando-a a doença hereditária monogênica mais comum do país (Carvalho *et al.*, 2014; Fernandes *et al.*, 2010; Ramos *et al.*, 2015; Rodrigues, *et al.*, 2012; Sankaran, *et al.*, 2010).

Figura 2 - Mapa mundial das localizações da mutação da célula falciforme (HbS) e a temperatura média anual (em °C).



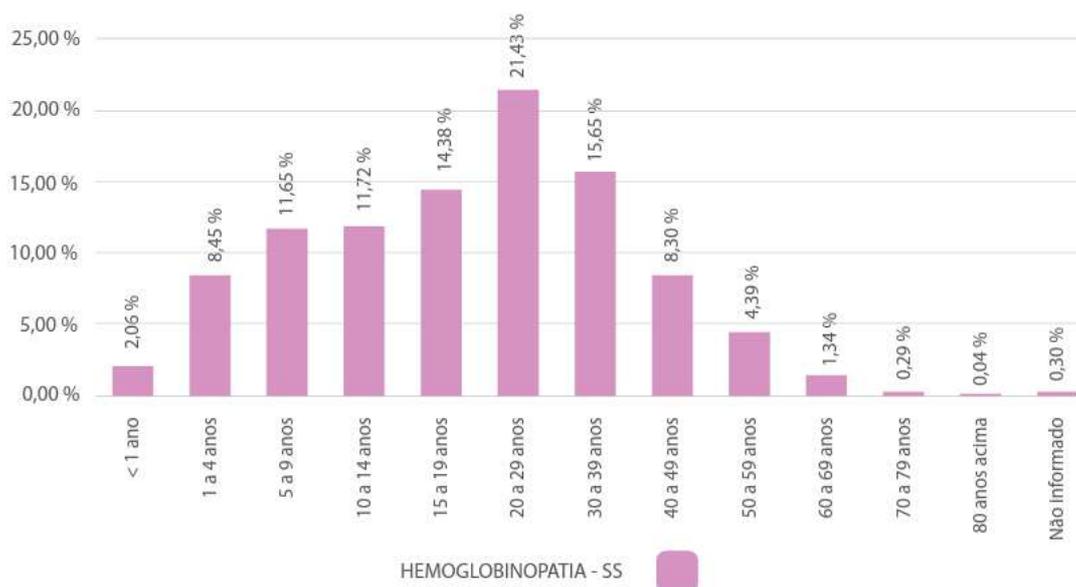
Fonte: adaptado de Tewari *et al.*, 2015.

Este grupo de doenças crônicas apresenta desafios significativos para a saúde pública em algumas partes do mundo, especialmente no Brasil (Silva *et al.*, 2013). O último levantamento realizado pelo Ministério da Saúde (MS) sobre as frequências de hemoglobinopatias no Brasil foi no ano de 2016 e identificou um total de 25.449 indivíduos com algum tipo de hemoglobinopatia, destes, 61,94% (15.762 indivíduos) eram portadores de anemia falciforme, seguido de 6.567 (25,80%) de indivíduos portadores de hemoglobinopatia SC e 3.120 (12,26%) de outras hemoglobinopatias (Brasil, 2021). Entre 2014 e 2020, a média anual de novos casos de crianças diagnosticadas com DF pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) foi de 1.087, e uma incidência de 3,78 a cada 10 mil nascidos vivos. Atualmente, há uma estimativa de 60 a 100 mil pacientes com DF no Brasil. De acordo com o Sistema de Informações de Mortalidade do SUS, entre 2014 e 2019, a maior parte dos pacientes com DF que foram a óbito no País faleceu entre 20 e 29 anos. O Brasil registra mais de um óbito de por dia em decorrência da doença e mantém uma média de um óbito por semana em crianças de 0 a 5 anos (Brasil, 2022a).

A distribuição da DF, não é homogênea no Brasil. A Região Sudeste concentra a maior parte dos indivíduos com hemoglobinopatias no país (50,59% dos casos), seguida pelas Regiões Nordeste (34,43%), Norte (8,23%), Centro-Oeste (6,21%) e Sul (0,54%), sendo a Bahia, o Distrito Federal e o Piauí as unidades federadas de maior prevalência da doença (Brasil, 2022a). Destacam-se os Estados da Bahia e Minas Gerais por acumularem 24,02% (51,00% de AF) e 22,52% (72,38% de AF), respectivamente, das hemoglobinopatias do Brasil (Brasil, 2021). No município de Governador Valadares, Minas Gerais, observa-se prevalência de AF de 0,03% e de traço falciforme de 3,136% (Januário, 2002).

O maior número de indivíduos portadores de AF possuem idade entre 15 e 39 anos, como ilustrado na figura 3. Além disso, 51,60% das pessoas são do sexo feminino. Em relação a raça/cor 42,36% dos registros não havia identificação, 0,3% amarelo, 7,15% branco, 0,24% indígena, 30,98% parda e 18,97% preta (Brasil, 2021).

Figura 3 - Prevalência da anemia falciforme por faixa etária no Brasil em 2016



Fonte: Ministério da Saúde/SAES. Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados: Hemovida Web – Hemoglobinopatias e Formsus.

Fonte: Brasil, 2021

Em Minas Gerais, o Núcleo de Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD) iniciou a triagem para detecção de hemoglobinopatias em 1998 (Felix *et al.*, 2010). Em 2005, foi instituída a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com DF e outras hemoglobinopatias, visando à organização da rede de assistência aos portadores. Todas essas medidas têm como objetivo contribuir para a redução da morbimortalidade da DF (Martins *et al.*, 2010). Após a inserção dessas políticas, os índices de mortalidade por AF têm decaído ao longo das últimas décadas, o que reflete o empenho do Estado pelo diagnóstico precoce e pela adoção de medidas preventivas já a partir do período neonatal em crianças com predisposição genética à AF (Ramos *et al.*, 2015). A precocidade no diagnóstico permite o acompanhamento médico proporcionando mais chance de diminuição da morbimortalidade e transmissão hereditária (Carvalho *et al.*, 2014).

2.3 FISIOPATOLOGIA E SUBFENÓTIPOS DA ANEMIA FALCIFORME

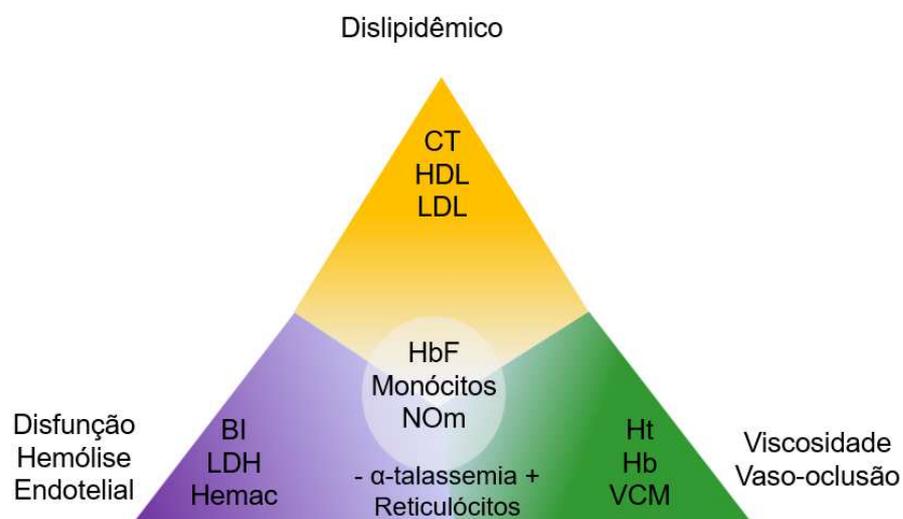
Os sintomas clínicos e sistêmicos na DF geralmente não são percebidos até a segunda metade do primeiro ano de vida, quando os níveis de HbF ainda são suficientes para limitar uma falcização clinicamente importante. Com o aumento da produção da HbS, iniciam-se os sinais e sintomas da doença (Fernandes *et al.*, 2010; Sankaran *et al.*, 2010). As manifestações

primárias da DF surgem de dois fenômenos principais decorrentes da falcização, a anemia hemolítica crônica e a crise aguda vaso-oclusiva (Habara; Steinberg, 2016; Kato; Gladwin; Steinberg, 2007). Geralmente alta contagem de reticulócitos, associada a baixos níveis de HbF e de Hb medidos em bebês parecem ser marcadores seguros de um curso grave da doença em crianças. Entretanto, para a previsão individual, essas medidas não são suficientes para facilitar decisões de manejo específicas (Rees; Brousse; Brewin, 2022).

As manifestações clínicas mais comuns em crianças são as crises álgicas, a Síndrome Torácica Aguda (STA), o sequestro esplênico agudo, a anemia aplástica aguda, as infecções e o Acidente Vascular Cerebral (AVC) (Tarer *et al.*, 2006). É conhecido que certas complicações de DF podem derivar da vasculopatia associada à hemólise progressiva (Kato; Gladwin; Steinberg, 2007) a processos inflamatórios (Abboud, 2020), incluindo a Hipertensão Pulmonar (HP), úlcera cutânea da perna, priapismo, AVC, STA e nefropatia (Abboud, 2020; Aboderin *et al.*, 2023; Kato; Gladwin; Steinberg, 2007).

As manifestações clínicas da AF são substancialmente heterogêneas, o que levou a classificação da doença em subfenótipos. O primeiro subfenótipo é determinado pelos fenômenos vaso-oclusivos, conhecido como “viscosidade e vaso-oclusão” (VVO), um segundo pela hemólise crônica, o subfenótipo de “disfunção hemólise endotelial” (HED) (Bender, 2017; Kato; Gladwin; Steinberg, 2007; Quinn, 2016) e um terceiro identificado como “dislipidêmico” (Aleluia *et al.*, 2017; Seixas *et al.*, 2010; Shores *et al.*, 2003). A Figura 4 mostra os três subfenótipos, as sobreposições e os marcadores principais de cada um.

Figura 4 - Subfenótipos da AF e principais marcadores



Nota: Modelo de subfenótipos dislipidêmicos, hemólise e disfunção endotelial, vaso-oclusão/viscosidade associados a dados laboratoriais em AF. Legenda: (grave), (mais leve), (grave), (mais leve), (grave), (mais leve). Os níveis de colesterol total (CT), lipoproteína de

alta densidade (HDL) e lipoproteína de baixa densidade (LDL) apresentam associação, sugerindo um novo subfenótipo dislipidêmico. A lactato desidrogenase (LDH) e a bilirrubina indireta (BI) são importantes biomarcadores de subfenótipos de disfunção hemólise endotelial. Hematócrito (Ht), hemácias (Hemac) e Volume Corpuscular Médio (VCM) estão associados a deleção $-a$ 3,7 Kb talassemia, refletindo o subfenótipo vaso-oclusivo/ viscosidade. No entanto, observamos que a contagem de reticulócitos está associada à hemólise e vaso-oclusão. Hemoglobina Fetal (HbF), metabólitos de NO (NOM) e contagem de monócitos apresentam influência entre todos os subfenótipos propostos. Os parâmetros laboratoriais descritos exibem diversidade fenotípica peculiar que foi difícil para separar o mecanismo fisiopatológico da AF.

Fonte: adaptado de Aleluia *et al.*, 2017.

Há sobreposição entre os subfenótipos na AF. Embora um possa predominar em um determinado conjunto de características e complicações, é possível que o outro subfenótipo também possa estar associado a algumas dessas propriedades (Ofori-Acquah, 2020). O Quadro 1 indica a relação destes subfenótipos com a HbF e a alfa-tal. Já o Quadro 2 resume as principais manifestações clínicas e características laboratoriais decorrentes dos dois subfenótipos principais da DF.

Quadro 1 - Subfenótipos da AF e principais características com relação a HbF e alfa-tal

Subfenótipo /Característica	Viscosidade-vaso-oclusão	Disfunção hemólise endotelial
HbF	Alta proteção	Menor proteção
Co-herança com Alfa-tal	Ausência associada ao aumento de viscosidade	Presença é protetora por reduzir HCM, densidade das hemácias e hemólise

Nota: HCM: hemoglobina corpuscular média; HbF: Hemoglobina fetal; Alfa-tal: alfa talassemia.

Fonte: modificado de Habara; Steinberg, 2016.

Quadro 2 - Marcadores e quadro clínico dos subfenótipos de disfunção hemólise endotelial (HED) e viscosidade/vaso-oclusão (VVO)

	Marcadores		Quadro clínico	
	Redução	Aumento		
Disfunção hemolítico endotelial (HED)	Hb	Reticulócitos	Priapismo	AVC
	Hematócrito	Bilirrubinas	Anemia crônica	Fadiga
	Saturação de oxigênio	Hb plasmática livre	Doença pulmonar restritiva	Úlceras cutâneas nas pernas
		Arginase plasmática	Manifestações cardiovasculares (cardiomiopatia)	Crescimento e maturação sexual tardios
		AST	Nefropatia	HP e sistêmica
		LDH	Manifestações gastrointestinais	Vasculopatia progressiva
			Crise aplástica	Retinopatia
Viscosidade/vaso-oclusão (VVO)	HbF	Hemoglobina relativamente alta	Episódios de dor vaso-oclusiva	Sequestro esplênico e infarto
	LDH relativamente baixa	Leucócitos	Síndrome torácica aguda	Estado inflamatório crônico
		Hematócrito	Dactilite	Infecção
		Fatores pró coagulação	Infartos cerebrais silenciosos	Episódios de dor aguda
		VHS	Osteonecrose	AVC isquêmicos
		PCR	Lesão renal	Lesão de reperfusão

Nota: HbF: Hemoglobina fetal; AST: Aspartato aminotransferase; LDH: Lactato Desidrogenase; PCR: Proteína C reativa; VHS: Velocidade de hemossedimentação; AVC: acidente vascular cerebral; HP: hipertensão pulmonar.

Fonte: Bender, 2017; Kato; Gladwin; Steinberg, 2007; Ofori-Acquah, 2020; Quinn, 2016; Steinberg *et al.*, 2019; Switzer *et al.*, 2006.

2.3.1 Hemólise e Subfenótipo de disfunção hemólise endotelial (HED)

A vida útil de uma hemácia falciforme pode ser reduzida de 120 dias para apenas dez, em decorrência dos altos níveis de hemólise ou como resultado da retirada das hemácias falciformes da circulação pelo sistema retículo-endotelial (Kesse-Adu; Howard, 2013). A hemólise que acompanha a DF pode ser classificada em dois tipos: intravascular e extravascular, sendo que a lesão da membrana eritrocitária contribui para ambas (Azar; Wong, 2017). A hemólise extravascular acontece pela remoção das hemácias danificadas da circulação por macrófagos esplênicos e teciduais e monócitos (Kato; Gladwin; Steinberg, 2007). Diferentemente, a hemólise intravascular leva ao excesso de hemoglobina e de heme extracelulares, que não podem ser completamente neutralizados pela haptoglobina e pela hemopexina, respectivamente (Kato; Steinberg; Gladwin, 2017). Isso desencadeia o consumo da hemopexina e da haptoglobina, bem como a liberação de arginase livre no plasma levando à depleção de NO, que por sua vez, provoca dano endotelial, estresse oxidativo, ativação plaquetária e inflamação (Steinberg *et al.*, 2019).

O NO é produzido pelas células do revestimento vascular (endoteliais), com a ajuda da enzima NO sintase 3 ou endotelial (NOS3) (Miranda *et al.*, 2015). O NO se liga à guanilato ciclase solúvel, que converte Guanosina Trifosfato (GTP) em Monofosfato cíclico de Guanosina (GMPc) no músculo vascular liso, causando relaxamento e vasodilatação importante na manutenção do tônus vasomotor (Switzer *et al.*, 2006).

A Hb plasmática liberada de hemácias falciformes, destruídas por via intravascular, rapidamente inativa o NO, formando nitrato e metahemoglobina. Adicionalmente, na DF, o grupo heme e o ferro hemínico catalisam a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO – espécies reativas do oxigênio ou ROS do inglês *reactive oxygen species*), que também consomem NO, gerando um estado de biodisponibilidade endotelial reduzida de NO. Essa baixa biodisponibilidade de NO prejudica algumas de suas funções, como a inibição de ativação e agregação de plaquetas e a repressão transcricional de moléculas de adesão celular, VCAM-1, molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), P-selectina e E-selectina (Kato; Gladwin; Steinberg, 2007; Morris *et al.*, 2005; Rees; Williams; Gladwin, 2010). Somado a estes eventos, a ruptura das hemácias também libera a enzima arginase, que hidrolisa a L-arginina, o substrato para produção de NO, fornecendo outro mecanismo para a deficiência de NO endotelial (Gilli *et al.*, 2016; Kato; Gladwin; Steinberg, 2007; Morris *et al.*, 2005).

A metabolização do heme acontece pela heme oxigenase-1 (HO-1) degradando-o a ferro, monóxido de carbono e biliverdina (Waza *et al.*, 2018). A biliverdina, após ação da biliverdina redutase (BVR), forma a bilirrubina, que é transportado ligado à albumina, formando a Bilirrubina Indireta (BI), que sofre a ação da UDP glucuronil-transferase, no fígado, resultando na Bilirrubina Direta (BD) ou conjugada, um composto mais polar e hidrossolúvel (Martelli, 2012; Ryter; Alam; Choi, 2006). A bilirrubina é, portanto, um marcador de hemólise na AF (Rodrigues *et al.*, 2012) e é um produto de degradação do heme da hemoglobina extremamente tóxico para os sistemas biológicos e, em especial, para o sistema nervoso (Campistol *et al.*, 2012).

Todo esse processo de hemólise cria um quadro clínico de anemia de grau moderado a grave (Jadhav *et al.*, 2016; Awoda *et al.*, 2017; Teixeira *et al.*, 2017), denominado subfenótipo de disfunção hemólise endotelial (HED), que está associado a marcadores de hemólise e a um quadro clínico característico, resumidos no quadro 2.

2.3.2 Vaso-oclusão e Subfenótipo viscosidade/vaso-oclusão (VVO)

As hemácias falciformes danificam os vasos sanguíneos o que promove o desenvolvimento dos componentes vaso-oclusivos e hemolíticos da doença (Steinberg *et al.*, 2019). As hemácias falcizadas passam a apresentar enrijecimento, alteração de proteínas da membrana e aumento da expressão de moléculas de adesão. Essas moléculas de adesão estão mais presentes em reticulócitos, tornando-os protagonistas do processo de vaso-oclusão (Sankaran *et al.*, 2010). Conseqüentemente, ocorre adesão das hemácias e reticulócitos ao endotélio, desencadeamento de um fenômeno inflamatório, ativação da coagulação, hipóxia, isquemia e infarto local, causando danos e dor (Sankaran *et al.*, 2010; Steinberg, 2008). A falcização *in vivo* é precipitada por infecção, hipóxia, desidratação, excesso de esforço e exposição ao frio. Outros fatores como a desidratação de células vermelhas, pH, adesão de moléculas, NO, plaquetas e leucócitos também desempenham um papel na vaso-oclusão (Alexy *et al.*, 2010; Roberts-Harewood, 2009).

A microcirculação é afetada pelo aumento da viscosidade do sangue e pela redução da deformabilidade das hemácias que elevam a resistência vascular pulmonar levando a agregação das hemácias (Renoux *et al.*, 2017), ocultando a circulação microvascular, produzindo isquemia ou infarto de tecido e danos endoteliais (Steinberg, 2008). Adicionalmente, as hemácias falcizadas se tornam mais aderentes e realizam ligações entre elas, com hemácias não

falcizadas, com células nucleadas e com o endotélio vascular, gerando a vaso-occlusão (Stuart; Nagel, 2004).

O endotélio na AF, de fato, é anormalmente ativado. A célula endotelial na AF exibe mais moléculas de adesão (entre elas a molécula de adesão celular vascular 1, do inglês *vascular cell adhesion molecule 1* - VCAM-1 e selectinas), maior produção de mediadores inflamatórios, bem como de ativadores celulares (por exemplo, interleucina 6 – IL-6, proteína quimioatratante de monócitos-1, do inglês *monocyte chemoattractant protein-1* - MCP-1, fator ativador de plaquetas, do inglês *platelet activating factor* - PAF). Além disso, a célula falciforme adquire um fenótipo procoagulante pela diminuição da trombomodulina e do inibidor da via do fator tecidual, além do fator tecidual aumentado, que inicia a cascata da coagulação, liberando múltiplos de fator de von Willebrand (FVW) que participam da hemostasia primária (Hebbel; Osarogiagbon; Kaul, 2004; Zago; Pinto, 2007). Este quadro observado em indivíduos com DF indica o estado inflamatório crônico que está presente, evidenciado por elevação crônica da leucometria, ativação anormal de granulócitos e monócitos (Switzer *et al.*, 2006), aumento de proteína C reativa (PCR) e da velocidade de hemossedimentação (VHS) (Azar; Wong, 2017; Rees; Gibson, 2011). A vaso-occlusão provoca lesão de reperfusão e inflamação (Steinberg *et al.*, 2019). Portanto, a DF também é reconhecida pela presença de inflamação crônica e estresse oxidativo, que desempenham papéis cruciais no desenvolvimento de uma série de complicações e vasculopatia crônicas (Nader; Romana; Connes, 2020).

Todo esse mecanismo vaso-oclusivo cria o denominado subfenótipo de viscosidade/vaso-occlusão (VVO), que está associado a uma série de marcadores e a um quadro clínico característico, resumidos no quadro 2.

2.3.2.1 Inflamação Asséptica na AF

Os principais mecanismos de inflamação na AF estão ligados à adesão de hemácias, granulócitos, monócitos e plaquetas ao endotélio vascular que geram citocinas e alterações no metabolismo de NO (Kutlar, 2005; Zago; Pinto, 2007). Além disso, uma série de mediadores inflamatórios e reagentes de fase aguda estão aumentados na DF, e estes estão listados no quadro 3. O próprio processo de vaso-occlusão, independentemente da causa imediata, causa isquemia de tecido e lesões, que certamente incitam a inflamação (Hebbel; Osarogiagbon; Kaul, 2004; Toledo *et al.*, 2019).

Quadro 3 - Mediadores inflamatórios, eventos e reagentes de fase aguda elevados na Doença Falciforme

G-CSF	VEGF	Haptoglobina	Interação falciforme-endotélio
TNF- α	TGF- β	Complexo TAT	Ativação de plaquetas
IFN- γ	GM-CSF	Fibrinogênio	Fosfolipase A2 secretora
IL-1 β	PAI-1	Soroamiloide	Exposição à PS
IL-2	HETE-12	Trombina	Geração de trombina
IL-4	FvW	Leucotrieno E4	Receptor IL-2 solúvel
IL-6	TF	Homocisteína	Secreção de peroxinitrito
IL-8	THBS	Endotoxina	Alfa-2 macroglobulina
IL-17	PG E2	Imunoglobulina	Ativação da fibrinólise
TSP	PG12	Microvesículas	VCAM-1 solúvel
PCR	MPs	Endotelina-1	Aumento e ativação de leucócitos
PEGF	D-Di	Leucotrieno B4	Fragmento de protrombina 1 + 2 (F1+2)
NETs	PAF	Complexo PAP	P-selectina solúvel

Nota: PCR: proteína C reativa; CSF: fator estimulante das colônias; HETE-12: ácido 12-hidroxiciclopentatrienoico; IL: interleucina; IFN: interferon; PG: prostaglandina; TNF: fator de necrose tecidual; TGF- β : fator transformador de crescimento beta; TSP: trombospondina; VCAM: molécula de adesão de célula vascular; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular; FvW: fator de von Willebrand; PAF: Fator ativador de plaqueta; PEGF: Fator de crescimento placentário; NETs: Armadilhas extracelulares neutrofílicas; THBS: Trombospondina; TF: fator tecidual; PS: fosfatidilserina; MPs: Micropartículas; PAI-1: Inibidor do ativador de plasminogênio-1; D-Di: D-Dímero; TAT: Complexo trombina-antitrombina; PAP: Complexo plasmina-antiplasmina.

Fonte: adaptado de Hebbel; Osarogiagbon; Kaul, 2004; Toledo *et al.*, 2019.

A inter-relação dos sistemas hemostático e inflamatório pode ser resumida como um ciclo, em que as células falciformes favorecem o estresse oxidativo, a hemólise e a vaso-oclusão promovendo a ativação do endotélio vascular concomitantemente com a inflamação. Esse processo desencadeia a ativação da coagulação induzindo a exposição de fosfatidilserina, expressão fator tecidual e aumento de marcadores inflamatórios, impulsionando o estado de hipercoagulabilidade. A ativação da coagulação estabelece um ciclo de retorno positivo que contribui para a inflamação, a ativação endotelial, a vaso-oclusão e a hemólise, através dos receptores ativados por proteases (Toledo *et al.*, 2019).

2.3.2.2 Complicações neurológicas

As complicações neurológicas mais graves da DF, consequentes do subfenótipo de vaso-oclusão, incluem: infarto cerebral isquêmico, infartos cerebrais silenciosos, hemorragia cerebral, anormalidades do fluxo cerebral, incluindo a doença de Moyamoya e doença microvascular cerebral (Bernaudin *et al.*, 2011). O AVC representa alta morbimortalidade em indivíduos com DF, especialmente na AF (Bhattacharya *et al.*, 2021).

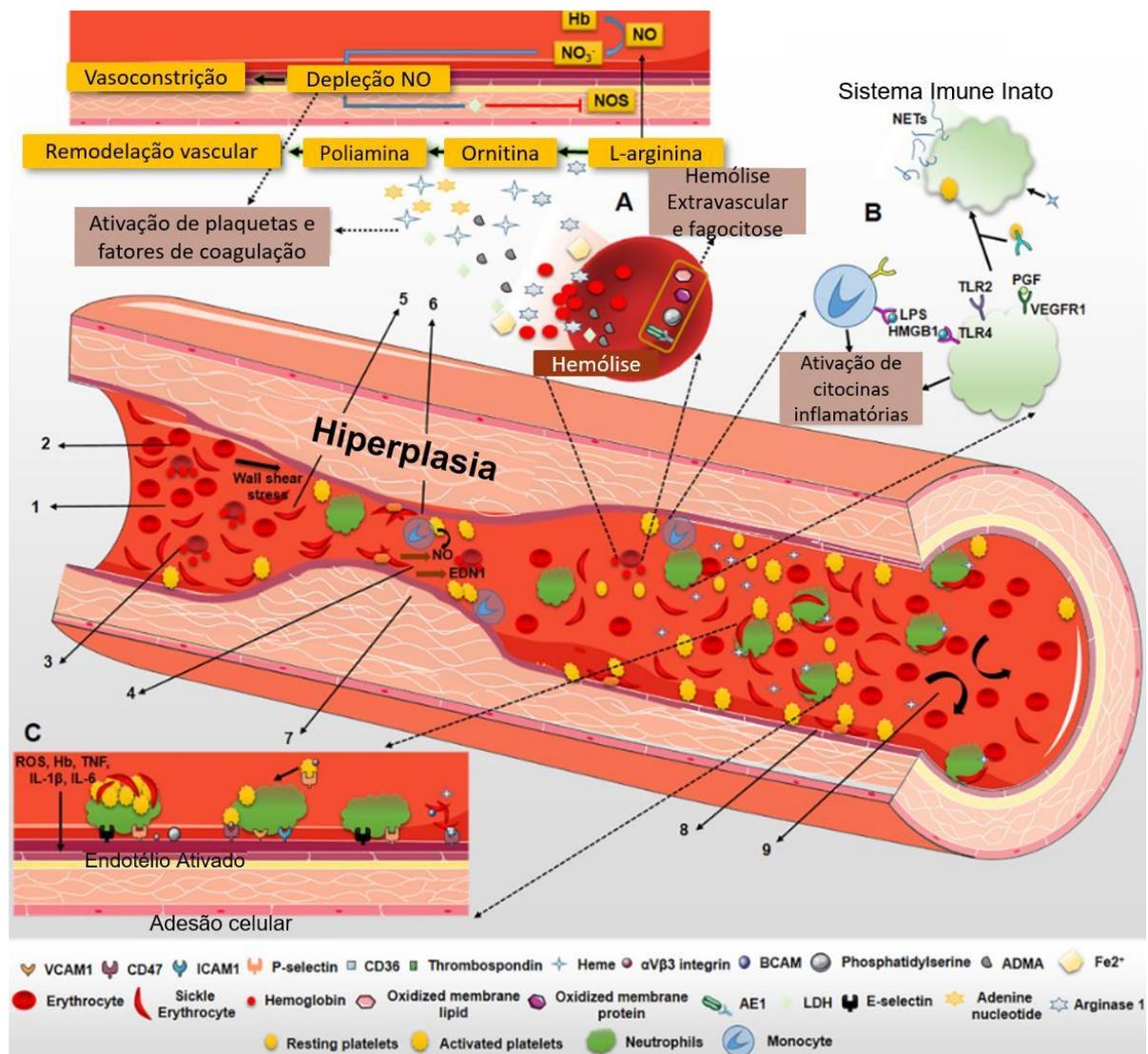
Os infartos cerebrais silenciosos em indivíduos com AF ocorrem em 39% aos 18 anos e em mais de 50% aos 30 anos (Kassim *et al.*, 2016). O AVC foi a terceira causa de morte (11,74%) em crianças acompanhadas em uma coorte pediátrica no Rio de Janeiro (Lobo *et al.*, 2018). Em indivíduos com AF os infartos cerebrais silenciosos estão associados a déficits cognitivos, desempenho acadêmico prejudicado e Quociente de Inteligência (QI) mais baixo e os AVCs evidentes apresentam-se como alteração do nível de consciência, fraqueza, afasia, convulsões, disartria, déficits sensoriais, paresia ou cefaleia (Brandow; Liem, 2022).

Crianças acometidas pela AF possuem risco 300 vezes maior de apresentar Doença Cerebrovascular (DCV), fazendo da AF a causa mais comum de ocorrência de DCV na infância (Hoppe *et al.*, 2007). A DCV parece ser devido à vasculopatia envolvendo grandes artérias cerebrais na AF o que acarretaria a estenose (figura 5). Em certo ponto do processo, a estenose grave torna-se detectável por meio de ultrassonografia com Doppler transcraniano (DTC) ou angiografia (Platt, 2005). A triagem do DTC e a terapia transfusional crônica, quando o DTC é anormal, continuam sendo intervenções muito eficazes para prevenir o AVC (Bhattacharya *et al.*, 2021). A determinação da velocidade do fluxo sanguíneo cerebral nas grandes artérias do Polígono de Willis é executada por meio da ultrassonografia transcraniana, com a utilização do Doppler pulsado de 2 MHz, com sonda acústica infantil (Companion III; VIASYS/Nicolet ou SONARA/tek). O protocolo baseado nos critérios sugeridos pelos pesquisadores do estudo - *Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia* (STOP) é utilizado para classificação (Adams *et al.*, 1998). Os resultados dos testes do DTC são estratificados de acordo com a classificação proposta pelo estudo STOP (Adams *et al.*, 1998). A frequência de AVC e velocidades anormais do DTC podem ser influenciadas pela variabilidade genética e acesso ao diagnóstico, visto que são muito variadas em todo o mundo (Bhattacharya *et al.*, 2021).

No Brasil indica-se a triagem com DTC em todas as crianças com DF e idade entre dois e 16 anos. Em crianças com AF há um risco elevado de desenvolvimento de DCV quando a velocidade na artéria carótida interna ou cerebral média, detectado pelo DTC, é ≥ 200 cm por segundo (cm/s) (Silva *et al.*, 2011). O resultado deve ser confirmado por dois outros exames com intervalo de uma a quatro semanas. Se a criança for confirmada como de alto risco para desenvolvimento de AVC, ela é encaminhada para tratamento preventivo primário do evento, com regime de transfusões sanguíneas regulares (manutenção da HbS $\leq 50\%$) (Brasil, 2013). A triagem de risco de DCV pelo DTC tem algumas limitações reconhecidas, o que torna necessário encontrar outros métodos de análise de risco de DCV (Belisário *et al.*, 2014). Para indivíduos com DTC anormal, ou aqueles que já sofreram um primeiro AVC as transfusões crônicas de sangue são recomendadas por pelo menos um ano em crianças com DTC anormal

antes de considerar a mudança para HU (Bhattacharya *et al.*, 2021). Estudos que compararam a HU e a transfusão sanguínea mostraram que a utilização do medicamento parece ser tão eficaz quanto a transfusão na prevenção de AVC em crianças com AF e velocidades anormais do DTC que receberam pelo menos um ano de terapia transfusional e não têm evidência de vasculopatia. Entretanto, para prevenção de AVC em crianças com AF que já tiveram um primeiro episódio, a HU pode não ser tão eficaz quanto a terapia transfusional (Nevitt; Jones; Howard, 2017).

Figura 5 - Vasculopatia cerebral na Anemia Falciforme



Nota: 1. Fluxo sanguíneo turbulento e polimerização intraeritrocitária da HbS. 2. Aderência da agregação leucócitos-hemácias ao endotélio vascular 3. A hemólise leva à diminuição da biodisponibilidade do NO. 4. A diminuição da biodisponibilidade do NO leva à vasoconstrição, disfunção endotelial com produção de ET1 e ERO e desencadeia inflamação, adesão vascular e coagulação. 5. A adesão vascular aumenta devido à inflamação e hiperplasia endotelial. 6. A hipóxia regula positivamente a expressão de diferentes moléculas de adesão em células endoteliais, leucócitos e plaquetas que estimulam a produção de ERO, coagulação e angiogênese. 7. O estresse de cisalhamento após a estenose limita a produção de NO pelas células endoteliais (oposto ao estresse de

cisalhamento da parede), aumenta a produção de ET1, adesão e moléculas inflamatórias que promove a coagulação. A) A polimerização da hemoglobina falciforme (HbS) causa hemólise. Hemólise extravascular: a fagocitose é promovida por a) exposição da membrana à fosfatidilserina e b) ligação de anticorpos a proteínas de membrana oxidadas. Hemólise intravascular: Liberação do conteúdo eritrocitário no plasma. O NO é eliminado pela Hb, e o substrato L-arginina da NOS é esgotado pela arginase 1 e a NOS é inibida pela ADMA. A remodelação vascular e a vasoconstrição surgem como resultado da depleção de NO pelas EROs. A deficiência de NO promove a ativação plaquetária e proteína de coagulação do sangue. B) O sistema imunológico inato é ativado pelo heme. Citocinas inflamatórias são liberadas de macrófagos e monócitos. As plaquetas ativadas aderem aos neutrófilos e promovem a formação de NETs. C) As células endoteliais que expressam selectina P e E ligam-se aos neutrófilos. Adesivo as células falciformes e as plaquetas ativadas ligam-se a neutrófilos circulantes ou ligados ao endotélio e formam agregados.

Abreviaturas: proteína de transporte de ânions AE1-Band 3; BCAM: molécula de adesão celular basal; ET1: Endotelina 1; Hb: Hemoglobina; HMGB1: proteína B1 do grupo de alta mobilidade; ICAM-1: Molécula de Adesão Intercelular 1; IL: Interleucina; IL-1 β : Interleucina 1 beta; IL-6: Interleucina 6; LDH: lactato desidrogenase; LPS: Lipopolissacarídeo; NETs: Armadilhas extracelulares de neutrófilos; NO: óxido nítrico; NOS: óxido nítrico sintase; PGF: fator de crescimento de placenta; ERO: espécies reativas de oxigênio; TLR2-Toll: receptor do tipo 2; TLR4-Toll: receptor do tipo 4; TNF: Fator de necrose tumoral; VCAM-1: Proteína de adesão celular vascular 1; VEGFR-1: Receptor 1 do fator de crescimento endotelial vascular.

Fonte: adaptado de Bhattacharya *et al.*, 2021.

2.3.3 Dislipidemia e Subfenótipo Dislipidêmico

Pesquisadores têm identificado alterações significativas no perfil lipídico de pacientes com AF e, por isso, foi proposto um terceiro subfenótipo, o dislipidêmico (Aleluia *et al.*, 2017; Seixas *et al.*, 2010; Shores *et al.*, 2003). Níveis diminuídos de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL) e lipoproteína de baixa densidade (LDL), níveis aumentados de triglicerídeos (TG) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) são encontrados em algumas populações de indivíduos com DF (Adegoke *et al.*, 2016; Akinlade *et al.*, 2014; Aleluia *et al.*, 2017; Cruz *et al.*, 2021; Ephraim *et al.*, 2016; Seixas *et al.*, 2010; Teixeira *et al.*, 2019; Teixeira *et al.*, 2017; Valente-Frossard *et al.*, 2020; Zorca *et al.*, 2010). A dislipidemia, caracterizada por hipocolesterolemia e hipertriglicidemia, foi associada ao agravamento de desfechos clínicos na AF em alguns estudos, sugerindo que os níveis dos lipídios refletem nos eventos inflamatórios e de injúria vascular (Dantas; Lopes; Ladeia, 2022). No entanto, a fisiopatologia e a interação clínica dos três subfenótipos e como eles agravam a AF não está completamente esclarecida. Além disso, vale ressaltar que variantes genéticas associadas aos níveis lipídicos podem ser a causa primária da dislipidemia e interferir no prognóstico da DF quando co-herdadas.

2.4 TRATAMENTOS DA ANEMIA FALCIFORME

As principais opções de tratamento para a AF são: profilaxia contra infecção, tratamento medicamentoso com HU, transfusão de sangue, analgesia e transplante de células-tronco hematopoiéticas (Vichinsky, 2002; Brasil, 2018).

Desde a publicação de seu estudo de referência em 1995, a HU continua a representar um pilar da terapia modificadora da DF (Bhattacharya *et al.*, 2021; Brandow; Liem, 2022), o fármaco licenciado mais utilizado para o tratamento da DF. Antes do início do uso, os potenciais riscos de utilização e a eficácia na redução das complicações agudas da doença devem ser apresentados aos indivíduos com DF e suas famílias para que possam tomar uma decisão sobre seu uso. Além disso, todos os indivíduos tratados com HU devem permanecer em acompanhamento de longo prazo (Nevitt; Jones; Howard, 2017). O uso da HU foi aprovado em 1998 pelo FDA (do inglês *Food and Drug Administration*) para adultos com intuito de reduzir a frequência de crises dolorosas. Em 2017, a HU foi liberada também para crianças a partir de dois anos para reduzir a frequência de crises dolorosas e necessidade de transfusões de sangue (Brandow; Liem, 2022). Os médicos também já podem considerar o uso da HU em crianças pequenas, baseados nos diversos benefícios, como menos hospitalização, episódios iniciais e recorrentes de dor, STA e dactilite, identificados pelo estudo BABY HUG. Esse foi um estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, que avaliou o tratamento de crianças de 9 a 18 meses com HU (Thornburg *et al.*, 2012).

O papel desempenhado pela HU em pacientes de baixa renda pode ser destacado, visto que o acesso às transfusões de sangue não está prontamente disponível para prevenção primária e secundária de AVC, o que reduz as taxas de AVC entre crianças com DTC anormal (Bhattacharya *et al.*, 2021). A HU tem como mecanismo de ação o aumento da HbF via supressão temporária da hematopoiese e eritropoiese de estresse (Brandow; Liem, 2022), por bloqueio da ribonucleotídeo redutase com inibição da produção do ácido desoxirribonucleico (DNA), mantendo as células na fase S do ciclo (Cançado *et al.*, 2009; Charage *et al.*, 1995; Holick; Tian; Allen, 1995; Wang *et al.*, 2002), o que leva a diminuição da inflamação através de redução nos leucócitos e plaquetas (Matte *et al.*, 2019). A HU também gera diminuição da expressão da molécula de adesão e aumento da produção de NO (Brandow; Liem, 2022; Matte *et al.*, 2019).

Em estudos de revisão, os autores concluíram que o tratamento com a HU leva ao aumento dos níveis de HbF e redução da contagem de neutrófilos, além de reduzir a frequência

de crises de dor e outras complicações agudas em adultos e crianças com AF, quando esta terapia é comparada com outros tratamentos, seja placebo, transfusão, quelação ou terapias combinadas. Além disso, a HU não parece estar associada a efeitos adversos graves e com risco de vida e pode ser eficaz na prevenção de primeiros AVCs e outros eventos neurológicos com risco de vida, para aqueles com risco aumentado de AVC, mantendo as velocidades do DTC (Nevitt; Jones; Howard, 2017; Rankine-Mullings; Nevitt, 2022; Tshilolo *et al.*, 2019). Apesar de tantos estudos, ainda não há evidências suficientes sobre os benefícios a longo prazo da HU, e especialmente na prevenção de complicações crônicas da DF. Também não há indícios suficientes sobre os riscos a longo prazo da HU, como por exemplo os efeitos na fertilidade e na reprodução (Nevitt; Jones; Howard, 2017). Há fortes indicativos de que inúmeros *loci* podem possivelmente modular variações nos níveis HbF após terapia com HU. SNPs, como os presentes no gene *BCL11A* poderiam afetar as alterações de HbF em resposta à terapia com HU, o que poderia ajudar a explicar a variabilidade de resposta à HU entre as pessoas com AF (Sales *et al.*, 2022).

No Brasil, o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da DF indica aos profissionais de saúde quais os tratamentos de diversos sintomas como a dor, STA, febre, crise aplástica, “crise de sequestração esplênica”, colecistite, obstrução do ducto biliar, úlcera de perna, osteonecrose e priapismo, além de conter informações sobre a conduta profissional quando há gestação entre as portadoras da AF, vacinação e outras informações importantes, como indicação do uso de HU. Esse protocolo possui também inúmeras informações relevantes sobre o uso da HU, como os benefícios esperados e efeitos adversos, cuidados e precauções, monitorização laboratorial, esquema de utilização e tempo de tratamento (Brasil, 2018).

A indicação da HU no Brasil leva em consideração além da idade do paciente maior ou igual a 2 anos (ou a partir de 9 meses, em situações especiais de risco de morbimortalidade da DF), a ocorrência de ao menos uma complicação presente em uma lista (como por exemplo, alteração neurológica devida a AVE; DCV associada a DF; duas ou mais crises vaso oclusivas graves, englobando STA, ou mais de um caso de priapismo no último ano; presença de mais de dois anticorpos em pacientes sob hipertransfusão ou um anticorpo de alta frequência; osteonecrose em mais de uma articulação). Além desses critérios, os indivíduos a partir de 9 meses, necessitam de pelo menos mais uma das seguintes complicações: dactilite (no primeiro ano de vida); concentração de Hb menor que 7 g/dL (média de 3 valores fora de evento agudo); ou contagem de leucócitos maior que 20.000/mm³ (média de 3 valores fora de evento agudo) (Brasil, 2018). Recentemente, a HU foi incorporada à rede pública de saúde na apresentação de 100mg (antes era disponível apenas na forma de cápsula de 500 mg). Essa inclusão poderá

beneficiar os pacientes pediátricos, facilitando a diluição do medicamento nas quantidades necessárias de acordo com o peso da criança (Brasil, 2024).

Outro medicamento já utilizado no Brasil, desde junho de 2022, em indivíduos maiores de 16 anos, para o tratamento da DF é o crizanlizumabe, um anticorpo monoclonal humanizado que reduz em até 45% as crises de dor vasooclusivas. Atua se ligando à P-selectina com alta afinidade e bloqueia as interações com seus ligantes. Este medicamento impede as interações multicelulares adesivas mediadas pela P-selectina, que são um fator essencial na patogênese das crises de vasooclusão (Brasil, 2020).

O monitoramento do horizonte tecnológico (Brasil, 2022b), divulgou em setembro de 2022 as terapias para o tratamento de DF. O quadro 4, extraído deste documento, contempla essas terapias para a DF e as autorizações por agências regulatórias, inclusive no Brasil. Apesar de outros medicamentos existirem para o tratamento da DF, a terapia com HU continua sendo a principal utilizada e a mais eficaz até o momento (National Heart, Lung, And Blood Institute, 2014).

Quadro 4 - Terapias em avaliação para o tratamento da doença falciforme

Medicamento	Classe terapêutica	Aprovação em agências regulatórias para doença falciforme		
		Anvisa	FDA	EMA
L-glutamina	Aminoácido	Não	Sim	Não
Crizanlizumabe (SEG101)	Anticorpo monoclonal	Sim	Sim	Sim
Voxelotor	Inibidor da polimerização de hemoglobina-S	Não	Sim	Sim
bb1111 (lovotibeglogene autotemcel)	Terapia gênica	Sem registro nas agências regulatórias avaliadas		
CTX001	Terapia gênica			
Etavopivat	Ativador da PKR			
Inclacumabe	Anticorpo monoclonal			
Mitapivat	Ativador da PKR			

Nota: Anvisa: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; FDA: United States Food and Drug Administration; EMA: European Medicines Agency; PKR: piruvato quinase eritrocitária.

Fonte: Brasil, 2022b

2.5 MODIFICADORES DA ANEMIA FALCIFORME

Embora a AF seja uma doença monogênica, decorrente de uma única mutação que leva a produção de HbS, a extensa diversidade de dados hematológicos e manifestações clínicas é sugestiva da presença de moduladores fenotípicos adicionais (Habara; Steinberg, 2016). Outros fatores genéticos e ambientais também parecem contribuir para modular a gravidade desta anemia hemolítica e gerar a ampla diversidade clínica e hematológica observada na AF (Habara; Steinberg, 2016; Tewari *et al.*, 2015).

Em relação aos fatores não genéticos que podem modificar a gravidade da AF destacam-se: infecção, clima (temperatura, velocidade do vento, umidade, entre outros fatores climáticos), qualidade do ar (níveis de NO, monóxido de carbono e outros poluentes atmosféricos), altitude, atividade física, fatores socioeconômicos, acesso à saúde, deficiências de saneamento básico, entre outras condições (Piel; Steinberg; Rees, 2017; Rees; Brousse; Brewin, 2022; Sankaran *et al.*, 2010; Tewari *et al.*, 2015).

Além disso, os efeitos aditivos e epistáticos de outros genes podem modular o risco e a gravidade do fenótipo clínico da AF. A contribuição dos fatores genéticos tem sido amplamente estudada na tentativa de explicar parte da variabilidade fenotípica clínica e laboratorial observada nas várias formas da AF (Smith; Orkin, 2016). Número crescente de estudos genótipo-fenótipo como os de genes candidatos e de associação ampla do genoma (GWAS, do inglês “*Genome-wide association study*”) têm sido publicados (Chaturvedi *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2016). Os estudos de GWAS identificaram vários locos gênicos, porém estes, em geral, explicariam apenas parte da variação fenotípica da AF (Fertrin; Costa, 2010). Tais estudos de GWAS apresentam limitações pelo número de casos da AF que é rara em muitas populações, ausência de coortes com fenótipos clínicos bem definidos para estudos de associação e replicação dos achados, quantidade insuficiente de pessoas com sinais clínicos raros para comparar com controles e predominância de alguns fenótipos por faixa etária (infartos vasculares predominam em crianças e úlcera de perna se agrava com a idade) (Habara; Steinberg, 2016).

Dentre os modificadores genéticos da AF mais bem estudados se destacam os níveis de HbF e a co-herança de alfa-tal (MIM141850/141800) (Habara; Steinberg, 2016; Steinberg; Sebastiani, 2012; Thein *et al.*, 2009). Geralmente, os indivíduos que têm níveis mais altos de HbF tendem a ter um curso clínico relativamente leve, porque esta reduz a tendência de polimerização da HbS dentro da hemácia (Akinsheye *et al.*, 2011; Higgs; Wood, 2008a). Além

da HbF inibir a polimerização da HbS, serve como poderoso agente de redução de falcização (Sankaran *et al.*, 2010; Summarell; Sheehan, 2016).

2.5.1 Hemoglobina fetal como modificadora da anemia falciforme

Indivíduos com AF possuem níveis mais elevados de HbF, variando de três a 25%, com uma média de 7%. A princípio, acreditava-se que o estresse eritropoiético crônico da DF, estimularia a eritropoiese e produção de células F, resultando em uma elevação geral de HbF (Stamatoyannopoulos *et al.*, 1985). No entanto, a distribuição de HbF é heterogênea nas hemácias, sendo que aquelas com níveis mais altos de HbF terão uma vantagem de sobrevivência, o que aumenta ainda mais o nível de HbF (Rees; Brousse; Brewin, 2022). A HbF tem o efeito benéfico mais notável sobre episódios dolorosos agudos e síndrome torácica aguda, que são resultados da vasooclusão falciforme. Já complicações como priapismo, nefropatia e vasculopatia falciforme estão associados à hemólise, de modo que a HbF tem um efeito benéfico menos óbvio, talvez porque apenas um pequeno número de hemácias falciformes lisados seja necessário para desencadear esses subfenótipos (Reiter *et al.*, 2002). Portanto, deve-se levar em consideração o fato de que em pacientes com doença mais grave, as taxas mais altas de hemólise selecionam células F, o que eleva os níveis gerais de HbF. Isso indica que os níveis de HbF precisam ser interpretados com cautela, em conjunto com outras informações, como concentração de hemoglobina total e contagem de reticulócitos (Rees; Brousse; Brewin, 2022).

Os estudos de replicação dos achados GWAS confirmaram que SNPs em loci gênicos (*BCL11A*, *HBSIL-MYB*, *HBG2* e *Xmn1-HBF2*) estão significativamente associados com os níveis de HbF e explicam uma variação fenotípica entre 10-50% da variação de HbF em adultos. Estas variantes são individualmente apenas fracamente associadas a sequelas clínicas (Rees; Brousse; Brewin, 2022). Alguns destes SNPs também possuem poder preditivo para crises de dor (Lettre *et al.*, 2018; Menzel *et al.*, 2007). Validação funcional do loco *BCL11A* foi realizada e confirmou este como um regulador crítico de HbF (Orkin, 2016). Sales e colaboradores (2020) identificaram que os SNPs rs4671393 em *BCL11A*, rs9399137 em *HMIP-2A* e rs4895441 em *HMIP-2B* estão independentemente associados aos níveis de HbF em crianças com AF. Neste mesmo estudo, foi identificado que os portadores do alelo variante rs4671393 de *BCL11A* apresentam menor risco de incidência de transfusão e os portadores do alelo de referência para rs4671393 apresentaram menor risco de infecções. Além disso, mostraram que os portadores de alelos menos frequentes para rs9399137 e rs9402686 em *HMIP-2A* e *HMIP-2B*, respectivamente, apresentaram menor risco de STA (Sales *et al.*, 2020). Os conhecimentos

gerados dos estudos de GWAS e funcionais envolvendo os marcadores que afetam os níveis de HbF são indicados como promissores para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas da DF (Basak; Sankaran, 2016; Lettre; Bauer, 2016).

2.5.2 Haplótipos de beta-globina como modificadores da anemia falciforme

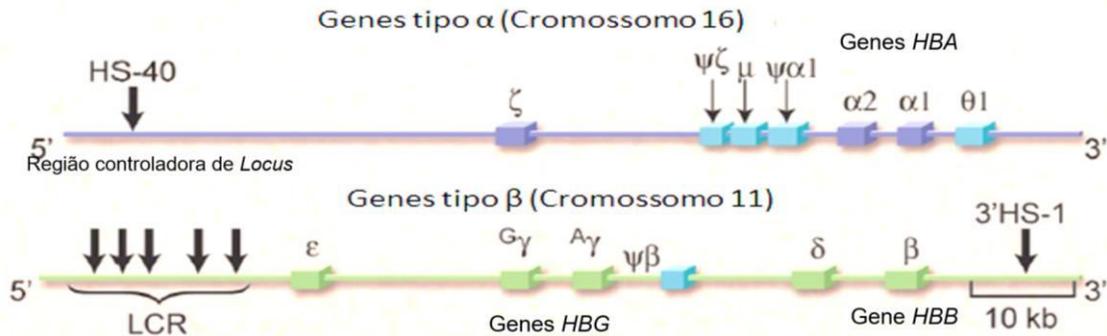
Existem ainda cinco haplótipos do agrupamento cromossômico de beta-globina que foram associados aos níveis de HbF e à gravidade clínica da AF. Eles são nomeados de acordo com as regiões geográficas onde eles têm a maior frequência: CAR ou Bantu (República Centro-Africana), BEN ou Benin (África Ocidental), SEN ou Senegal (África Ocidental), CAM de Camarões, (África Ocidental) e ARAB (Ásia, Índia e a Península de árabe), além de haplótipos atípicos (Labie *et al.*, 1985; Makani *et al.*, 2013).

Indivíduos que possuem os haplótipos SEM e SAUDI apresentam níveis elevados de HbF, podendo apresentar manifestações clínicas mais leves. Os indivíduos que herdaram o haplótipo CAR apresentam níveis mais baixos de HbF, podendo apresentar manifestações clínicas mais graves. E aqueles que carregam o haplótipo BEN expressam níveis intermediários de HbF, podendo apresentar manifestações clínicas intermediárias (Camilo-Araújo *et al.*, 2014). No entanto, em geral estas associações são bastante controversas entre os estudos (Serjeant; Vichinsky, 2018). Para Rees, Brousse e Brewin (2022) há pouca evidência para sugerir que os haplótipos fornecem mais informações do que medir o nível da HbF, visto que a maioria dos estudos que associaram esses haplótipos à gravidade da AF não possuía o desenho confiável e tinham falta de controle da estrutura populacional.

2.5.3 Alfa talassemia como modificadora da anemia falciforme

Os diferentes tipos de Hb humana são formados por combinações de cadeias globínicas que são sintetizadas de acordo com o período de desenvolvimento do indivíduo. Os genes das globinas estão organizados em agrupamentos alfa-globina e beta-globina em dois cromossomos autossômicos. Esses agrupamentos são compostos pelos genes *HBD* (11p15.4 142000), *HBB* (11p15.4 141900), *HBG1* (11p15.4 142200), *HBG2* (11p15.4 142250), *HBE1* (11p15.4 142100) e pelos genes *HBA1* (16p13.3 141800), *HBA2* (16p13.3), *HBZ* (16p13.3 142310), *HBM* (16p13.3 609639), *HBQ1* (16p13.3 142240) localizados nos cromossomos 11 e 16 respectivamente (Figura 6) (Sankaran; Orkin, 2013; Schechter, 2008).

Figura 6 - Esquema do agrupamento dos genes da alfa-globina, localizados no cromossomo 16 e do agrupamento dos genes da beta-globina, localizado no cromossomo 11

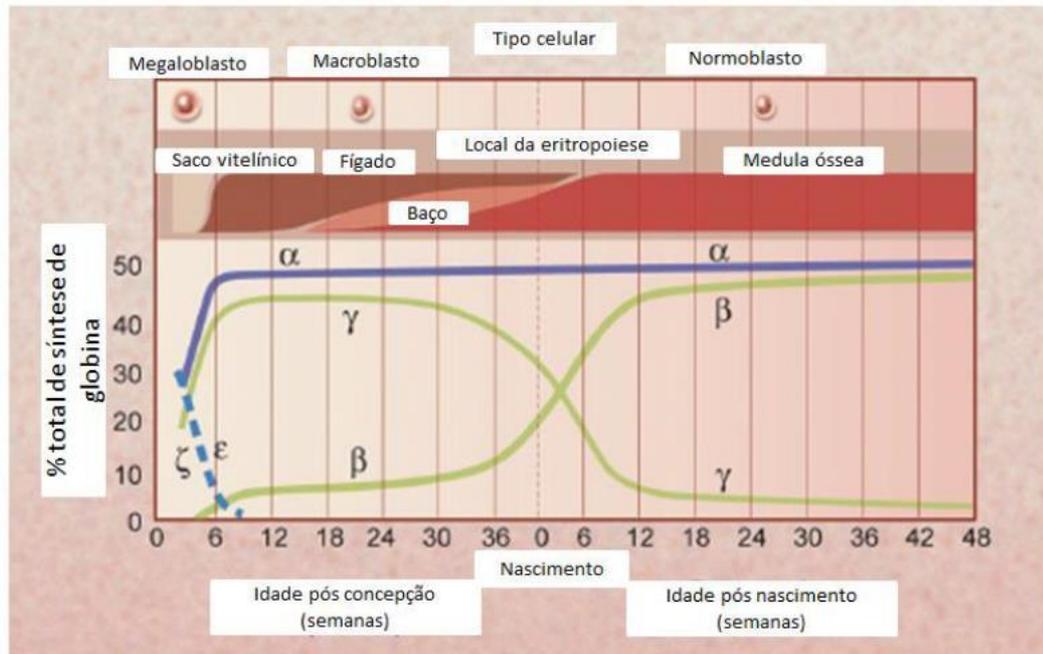


Nota: Genes do agrupamento da alfa (α)-globina, localizado no cromossomo 16 (fita do DNA em azul no sentido 5' - 3'), composto pelos genes δ (*HBZ*) e μ (*HBM*) além dos pseudogenes $\psi\delta$ e $\psi\alpha$, gene $\alpha 1$ (*HBA1*), $\alpha 2$ (*HBA2*), $\theta 1$ (*HBQ1*). Genes do agrupamento da beta (β)-globina, localizado no cromossomo 11 (fita de DNA em verde no sentido 5' - 3'), composto pelos genes ϵ (*HBE*), γG (*HBG1*) e γA (*HBG2*), pseudogene beta ($\psi\beta$), gene δ (*HBD*) e β (*HBB*).

Fonte: adaptado de Schechter, 2008

Dois cadeias alfa-globina e duas cadeias beta-globinas constituem a HbA1, que é a Hb mais comum no indivíduo adulto, compondo 97% do total das Hb. As cadeias alfa-globinas combinadas com cadeias delta-globinas constituem a HbA2, que juntamente com a Hb fetal (HbF) completam os 3% remanescentes de Hb do adulto (Sankaran; Orkin, 2013). Há um controle temporal de expressão das cadeias globínicas, ilustrado na figura 7.

Figura 7 - Representação gráfica da expressão temporal e local dos genes das cadeias globinas nas fases embrionária, fetal e adulta



Expressão temporal e da localização de Hemoglobinas nas diferentes fases da vida em seres humanos. Até o terceiro trimestre de gravidez são produzidas as cadeias épsilon globina (ϵ) e zeta globina (ζ), que se associam formando a Hemoglobina Gower 1 ($\epsilon\zeta_2$). Também no início do terceiro trimestre inicia-se a produção da globina alfa (α), que se associa à globina épsilon (ϵ) formando a hemoglobina Gower 2 ($\epsilon_2\alpha_2$). E ainda no período embrionário há a produção de Hemoglobina Portland, que é uma associação das cadeias zeta (ζ) e gama (γ) ($\zeta_2\gamma_2$). A hemoglobina fetal começa a ser produzida já no final do terceiro trimestre e permanece em pequena quantidade ao longo da vida do indivíduo, é formada pela combinação das cadeias globínicas gama A ou G (γ_A ou γ_G) e alfa (α) ($\gamma_A\alpha_2$ e $\gamma_G\alpha_2$). Já no final do terceiro trimestre começa a produção da β globina, que substitui a gama (γ) globina após o nascimento, se associando a alfa globina formando a hemoglobina principal do adulto, a hemoglobina A1. Inicia-se a partir do sexto mês de gestação a produção de delta (δ) globina, que associada à globina alfa (α) formando a hemoglobina A2, que tem baixa produção ao longo da vida do indivíduo.

Fonte: adaptado de Schechter, 2008

Os defeitos moleculares nas regiões reguladoras ou codificantes dos genes humanos *HBA2*, *HBA1*, *HBB* ou *HBD* podem minimizar ou reduzir drasticamente a expressão dos mesmos, levando a alfa (α), beta (β) ou delta (δ)-talassemia (α -tal, β -tal, δ -tal), respectivamente (Giardine *et al.*, 2014).

O segundo principal modificador de fenótipo clínico na AF é a expressão dos genes de alfa-globina (*HBA1/HBA2*) (Liu *et al.*, 2016). Juntamente com a AF, a coexistência de mutações deletórias nos genes de alfa-globina, que levam a alfa-tal, uma anemia hipocrômica microcítica, estão presentes em um terço dos pacientes de origem africana (Rumaney *et al.*, 2014; Steinberg; Embury, 1986), bem como na população brasileira (Aleluia *et al.*, 2017; Belisário *et al.*, 2010a; Domingos *et al.*, 2014; Lemos; Guerreiro, 2010). A deleção de 3.7 Kb (alelo $\alpha^{-3.7Kb}$) que leva a um gene híbrido entre *HBA1* e *HBA2* é a mais frequente entre os indivíduos com ancestralidade africana. As formas de alfa-tal comumente encontradas entre os indivíduos com AF são as que envolvem uma deleção com a presença de um único gene *HBA*

híbrido num dos cromossomos, $\alpha^-/\alpha\alpha$ também denominado heterozigoto α^+ -tal, α -tal silenciosa, ou talassemia 2 e aquelas em que o indivíduo tem o genótipo α^-/α^- , conhecido como α^+ -tal homozigótica ou traço talassêmico pela herança das deleções de ambos os genitores (Serjeant; Vichinsky, 2018).

Os efeitos benéficos da α -talassemia são atribuídos à redução da concentração de hemoglobina em cada eritrócito, medida pela menor concentração média de hemoglobina corpuscular (MCHC), o que diminui a tendência da hemoglobina S (HbS) de polimerizar, resultando em melhor deformabilidade das hemácias, redução das taxas de hemólise e aumento dos valores totais de hemoglobina. Porém há pouca influência sobre os níveis de HbF (Belisário; Viana, 2011; Embury *et al.*, 1984; Hatzlhofer *et al.*, 2021).

Outro efeito proposto para a redução de cadeias alfa-globinas e que poderia influenciar o curso da DF é a eliminação de NO e promoção da vasodilatação (Denton *et al.*, 2021). O efeito protetor do traço alfa-tal no desenvolvimento das complicações na AF foi sugerido ser devido ao efeito da alfa-globina no sistema vascular por meio de sua capacidade de regular a difusão do NO do endotélio para as células musculares lisas da parede vascular, além de seus efeitos conhecidos sobre as hemácias (Romana *et al.*, 2021).

A alfa-tal tem efeitos aparentemente paradoxais sobre as manifestações clínicas da AF (Nagel; Steinberg, 2001), uma vez que em homozigotos alfa-tal há um aumento do nível de Hb e maior viscosidade que pode comprometer o fluxo sanguíneo nos grandes vasos. Portanto, o mecanismo de alfa-tal deve ser distinguido entre a deficiência do fluxo capilar daquela em vasos maiores (Serjeant; Vichinsky, 2018).

Entre os estudos que associam a co-herança de alfa-tal com os subfenótipos indicadores de gravidade clínica da AF há ainda pouco consenso e os achados carecem de replicação nas populações. Há evidências de que a co-herança da alfa-tal atenua alguns dos sintomas da DF relacionados à disfunção hemólise endotelial tais como úlcera de perna, priapismo e vasculopatia cerebral (Belisário *et al.*, 2010b; Hatzlhofer *et al.*, 2021; Joly *et al.*, 2016; Pecker, *et al.*, 2017), infarto cerebral silencioso (Brewin *et al.*, 2021), complicações renais (Brewin *et al.*, 2022), bem como melhora na sobrevida dos indivíduos com AF (Rumaney *et al.*, 2014) embora este aspecto não foi confirmado em outros estudos (Brewin *et al.*, 2022). Por outro lado, estudos têm mostrado que a presença de alfa-tal é um fator agravante para as complicações do subfenótipo de vaso-oclusão tais como osteonecrose (Ballas *et al.*, 1989), síndrome torácica aguda (Pandey *et al.*, 2011) e crises de dor (Darbari *et al.*, 2012; Renoux *et al.*, 2017).

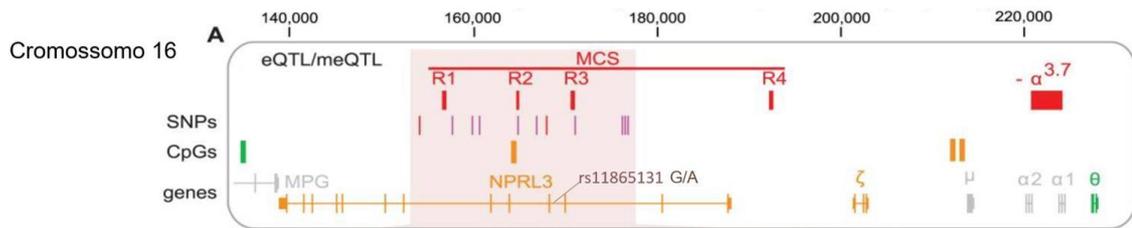
Alguns estudos, indicam que parte da heterogeneidade fenotípica da AF relacionada a alfa-tal poderia ser explicada por variantes nos elementos reguladores do agrupamento de genes

HBA1/2, que podem regular positiva ou negativamente a expressão gênica (Milton; Shaikho; Steinberg, 2019; Steinberg *et al.*, 2019).

A regulação de longo alcance da expressão dos genes do grupamento alfa-globina é controlada por elementos específicos situados 30-70 kb a montante desses genes e dentro do gene *NPRL3* (Receptor de Peptídeo Natriurético de Proteínas tipo 3, do inglês - *Natriuretic Peptide Receptor Like 3 protein*). Esses elementos incluem os promotores dos genes ζ - e α -globina e quatro elementos de Sequência Conservada Multiespécies (MCS-R1 a 4) também conhecidos como Elemento Regulador Principal (MRE). As regiões mais conservadas nos elementos MCS correspondem às sequências de ligação a fatores de transcrição (GATA1, GATA2, SCL, NF-E2 entre outros fatores) que desempenham um papel importante na rede transcricional eritróide (Higgs; Wood, 2008b). O elemento MCS-R2, que fica 40 kb a montante do *locus* da α -globina, corresponde a um DHS chamada hipersensível-40 (HS-40), e é capaz de aumentar a expressão da α -globina (Alimohammadi-Bidhendi *et al.*, 2021; Higgs; Wood, 2008b) em ao menos 10% (Capasso *et al.*, 2023). MCS-R1, 3 e 4 (com ou sem MCS-R2) desempenham papel no recrutamento da maquinaria transcricional basal e MCS-R2 é importante para o recrutamento de Polimerase I no promotor. Deleções nos elementos MCS são apontadas como fator causal de pelo menos 14 tipos de alfa-tal. A deleção de MCS-R2 por si só é suficiente para regular negativamente a expressão de α -globina para menos de 5% do normal (Higgs; Wood, 2008b).

Uma das variantes moduladoras de expressão dos genes *HBA* é a rs11865131 (NC_000016.10:g.113668G>A, CM000678.2:g.113668G>A – GRCh38) situada dentro do íntron 5 do gene *NRPL3* que sobrepõe o elemento MCS-R2 (Hay *et al.*, 2016) e apresenta sítio de ligação a alguns fatores de transcrição (Figura 8) (Ensembl, 2022c; Ghazi *et al.*, 2020). Tanto o SNP rs11865131 como o rs1248850, ambos localizados na região MCS-R2 no íntron do gene *NPRL3*, foram associados com maiores índices de volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), menor número de hemácias e amplitude de distribuição das hemácias (*Red Cell Distribution Width* - RDW). Estes SNPs quase que exclusivamente restringem a portadores de alfa-tal com a deleção $\alpha^{-3.7Kb}$ da população afro-americana e em pacientes com DF que possuem risco de AVC (Raffield *et al.*, 2018).

Figura 8 - Região genômica abrangendo os genes *NPRL3* que contém a variante rs11865131 e sequências conservadas multi-espécies (MCS R1-4), genes *HBA1/HBA2* e a região de deleção $-\alpha 3.7$ Kb



Fonte: adaptado de Raffield *et al.*, 2018

O alelo A- rs11865131 parece estar associado a parâmetros laboratoriais e clínicos sugerindo aumento da expressão de *HBA1/HBA2* e foi sugerido como um modificador do efeito, também modificador, de alfa-tal na AF (Raffield *et al.*, 2018).

2.5.4 Outros modificadores da anemia falciforme

Os genes que modulam os níveis de HbF, a coexistência de alfa-tal e os haplótipos do gene *HBB* são insuficientes para explicar a heterogeneidade clínica e laboratorial observadas na AF (Steinberg; Sebastiani, 2012). Portanto, genes modificadores que alteram a resposta inflamatória, a adesão celular, a coagulação e a vasorregulação podem significativamente afetar a fisiopatologia da doença. Fatores genéticos independentes que afetam o metabolismo do NO e o transporte de ferro, também poderiam influenciar a expressão do fenótipo da doença. Além disso, danos em órgãos específicos tais como AVC, doença renal, HP, complicações cardiovasculares e a sensibilidade à dor são influenciados por modificadores genéticos (Driscoll *et al.*, 2003; Serjeant; Vichinsky, 2018; Steinberg, 2009). Por isso, há hipótese de que outros fatores moduladores epistáticos genéticos ou ambientais podem ser explicativos dessas variações observadas na co-existência da alfa-tal na AF (Raffield *et al.*, 2018).

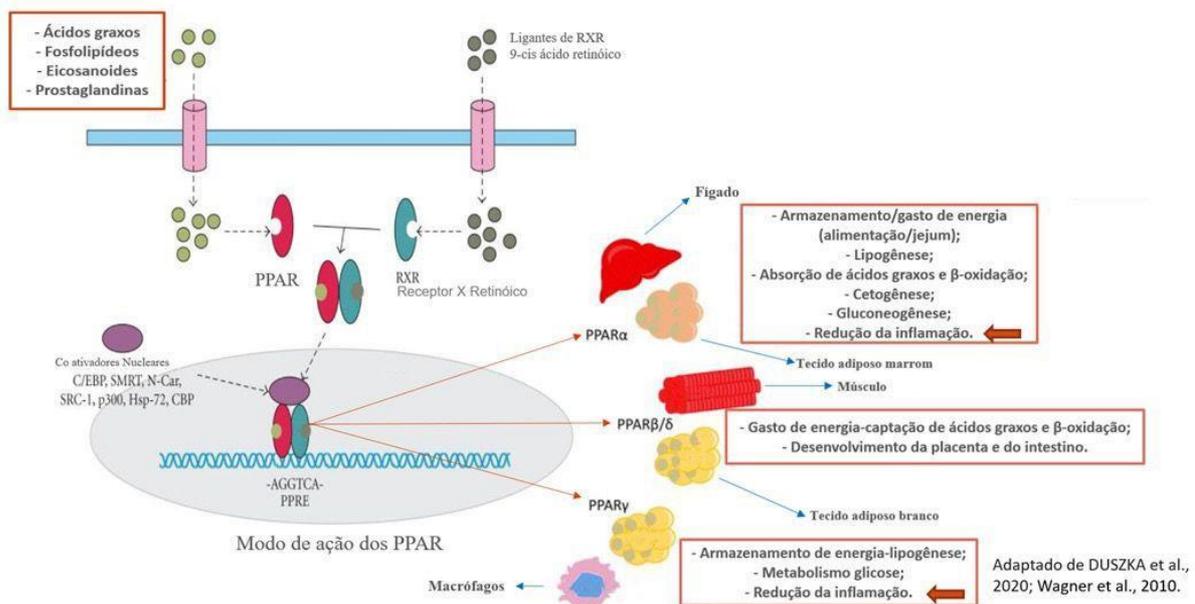
2.6 RECEPTORES ATIVADOS POR PROLIFERAÇÃO DE PEROXISSOMOS (PPAR)

Os receptores ativados por proliferação de peroxissomos (PPAR do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor*), funcionam como fatores de transcrição ativados por ligantes. Compõem a superfamília de receptores nucleares com três isoformas, PPAR- α , PPAR- γ e

PPAR- β/δ , codificadas por genes separados (*PPARA*, *PPARG* e *PPARD*, respectivamente), com funções e sítios de expressão distintos (Berger; Moller, 2002; Chen; Yang, 2014). Os PPARs ligam-se como heterodímeros em um receptor X retinóide e, após um agonista de ligação, interagem como cofatores de modo que a taxa de iniciação da transcrição é aumentada (Berger; Moller, 2002).

Os PPARs funcionam dentro dos núcleos celulares para controlar a homeostase, o metabolismo e o desenvolvimento do organismo (Chen; Yang, 2014). Estes desempenham papéis importantes em um amplo espectro de processos biológicos, incluindo proliferação e diferenciação celular, sinalização de ácidos graxos e eicosanóides, formação óssea, reparo e remodelação de tecidos, sensibilidade à insulina e, em particular, metabolismo de glicose e lipídios (Duszka *et al.*, 2020). As figuras 9 e 10 resumem as principais atividades e interações com AMPK dos PPARs, respectivamente.

Figura 9 - Ativação e principais funções de receptores ativados por proliferadores de peroxissomas (PPARs) em diferentes tecidos

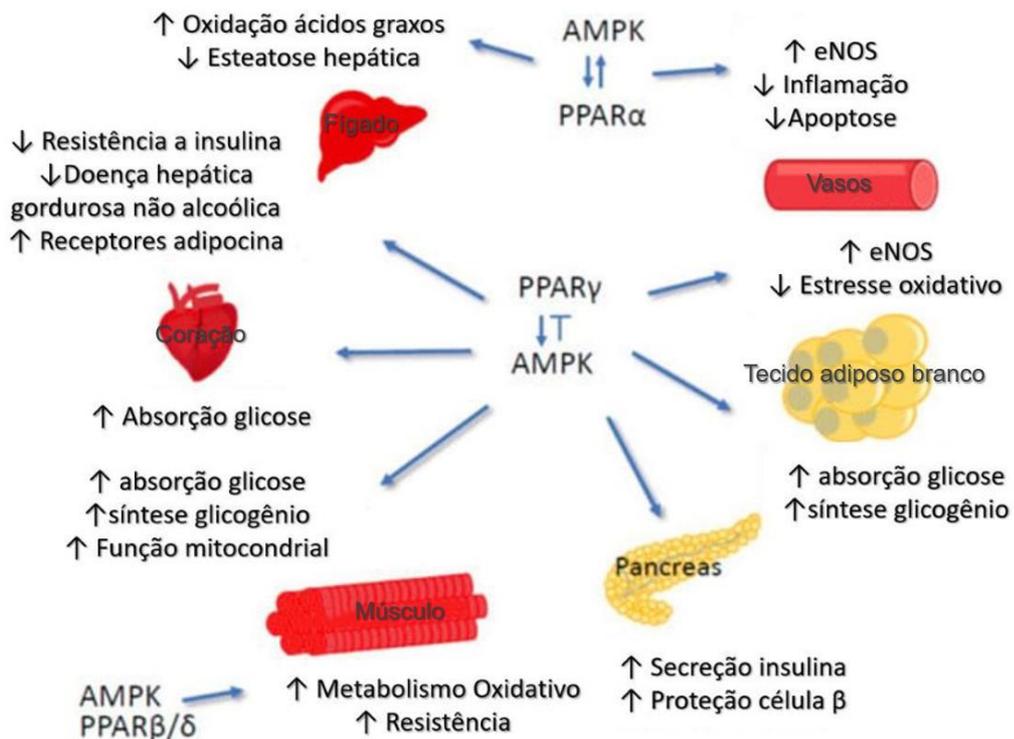


Nota: Os PPARs compartilham ácidos graxos como ligantes comuns, elemento de resposta ao proliferador de peroxissomo (PPRE) como seu sítio de ligação aos genes alvo e receptores de retinóide X (RXR) como seu parceiro heterodímero. Cada PPAR mostra padrões distintos de expressão e função. O papel dominante do PPAR- α está ligado ao ajuste metabólico no fígado e no tecido adiposo marrom (BAT). O PPAR- β/δ está principalmente associado ao metabolismo do músculo e do tecido adiposo branco (WAT), bem como ao desenvolvimento de órgãos. O PPAR- γ é um regulador mestre da adipogênese e manutenção do WAT e desempenha um importante papel anti-inflamatório. No entanto, este desenho representa uma visão esquemática e simplificada de mecanismos muito mais complexos. PPAR: receptores ativados por proliferadores de peroxissomas; PPRE: elemento de resposta ao proliferador de peroxissomo; RXR: receptores de retinóide X; BAT: tecido adiposo marrom; WAT: tecido adiposo branco.

Fonte: adaptado de Duszka *et al.*, 2020; Wagner *et al.*, 2010.

O fator de transcrição denominado Nrf-2 (fator nuclear eritroide-2) é o principal regulador da resposta citoprotetora celular à heme, ferro e estresse oxidativo (Singh *et al.*, 2010), como os relacionados aos sistemas antioxidantes glutaciona e superóxido dismutase (Zhang *et al.*, 2013). Nrf-2 também pode ativar a produção de HbF em células hematopoiéticas humanas (Macari; Lowrey, 2011). Por isto, Nrf2 tem sido considerado um importante alvo terapêutico para drogas que possam beneficiar o tratamento da DF (Belcher *et al.*, 2017). O Nrf-2 tem sua via regulada pelos PPAR- γ e as interações entre as vias de sinalização PPAR- γ -Nrf-2 podem modular a expressão de diversos genes envolvidos na redução do estresse oxidativo e na resolução da inflamação (Cai *et al.*, 2018).

Figura 10 - Interações entre AMPK e PPARs



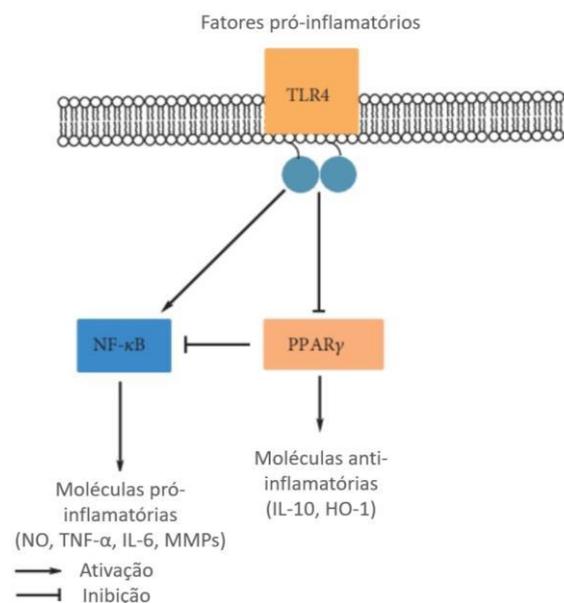
Nota: Os resultados específicos do tecido da interação entre PPARs e proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMP) (AMPK). O PPAR γ interage com a AMPK em vários tecidos, incluindo vasos sanguíneos, tecido adiposo branco, pâncreas, músculo, coração e fígado, levando a um aumento do metabolismo, bem como à redução do estresse oxidativo e da inflamação. O PPAR α , em cooperação com a AMPK, afeta o metabolismo no fígado, bem como reduz a inflamação e a apoptose nos vasos sanguíneos, enquanto o PPAR β/δ com AMPK afeta o desempenho muscular.

Fonte: adaptado de Duszka *et al.*, 2020.

Todas as isoformas de PPARs ativados inibem a atividade do NF- κ B, levando à supressão da inflamação, como ilustrado na figura 11. Os PPARs têm a capacidade de transrepressão e regulação da expressão de genes inflamatórios e pró-inflamatórios. Um dos

mecanismos é por meio da interação com a subunidade p65 do NF- κ B (Kytikova *et al.*, 2020). No citosol das células há a presença de uma forma inativa de NF- κ B, que está associada à proteína inibidora de NF- κ B (I κ B). A ativação do NF- κ B ocorre estimulada por dano ao DNA, estresse oxidativo e estímulos pró-inflamatórios, além disso, é controlada pelos receptores de fator de necrose tumoral (TNFR), de interleucina-1 (IL-1R) e TLRs. Outras vias, como a do I κ B quinase (IKK), promove a degradação de I κ B e a liberação de NF- κ B (Kytikova *et al.*, 2020). Após ativado, o NF- κ B, migra para o núcleo e impulsiona a expressão gênica (até de genes mitocondriais), resultando em síntese de prostaglandinas D2 e E2 (PGD2 e PGE2) o que ativa PPAR- α e PPAR- γ (Albensi, 2019). Em macrófagos a isoforma PPAR- β/δ reduz a expressão de marcadores pro-inflamatórios tais como NF- κ B, portanto, com atividade anti-inflamatória (Zingarelli *et al.*, 2010).

Figura 11 - Interferência anti-inflamatória do PPAR γ , receptores toll-like (TLRs) e NF- κ B



Nota: HO-1: heme oxigenase 1; NO: óxido nítrico; MMPs: metaloproteinases de matriz.
Fonte: adaptado de Kytikova *et al.*, 2020.

Devido a seus mecanismos de ação na fisiologia e fisiopatologia de várias doenças crônicas, pesquisas têm sido voltadas para a descoberta de drogas que podem intervir na função dos PPARs. Exemplo são os agonistas de PPAR- α , como fibratos e agonistas de PPAR- γ , como tiazolidinedionas, cujos mecanismos estão envolvidos na melhora dos efeitos adversos de distúrbios crônicos, como hiperlipidemias, aterosclerose e diabetes mellitus tipo 2 (Kota, Huang, Roufogalis, 2005; Monsalve *et al.*, 2013). Agonistas de PPAR- β/δ melhoraram a

disfunção endotelial em modelos animais de doenças associadas ao aumento de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), tais como obesidade, diabetes e hipertensão (Toral *et al.*, 2015).

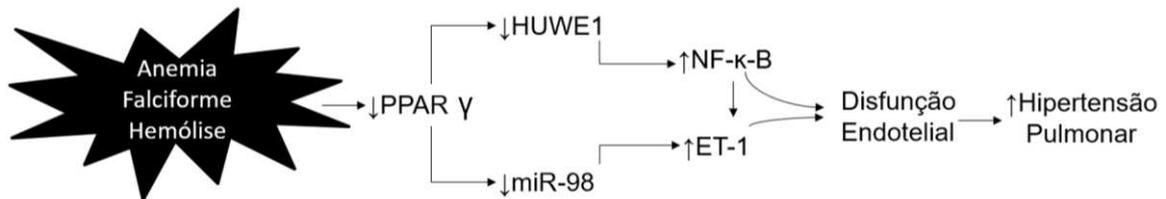
A isoforma PPAR- γ exerce propriedades anti-inflamatórias que modulam a resposta imune. O papel anti-inflamatório de PPAR- γ tem sido mostrado há muitos anos uma vez que seus agonistas atuam como reguladores negativos de monócitos e macrófagos e inibem, de forma dose-dependente, a produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , IL-1 β e IL-6, em monócitos humanos (Reddy, 2008). Mais recentemente, esta isoforma foi implicada na cinética de diferenciação de monócitos a macrófagos (Heming *et al.*, 2018).

Por outro lado, foi mostrado que PPAR- α é capaz de reduzir a expressão de fator de crescimento placentário (PIGF) o qual está aumentado em pacientes com AF como parte da resposta hiperplásica eritróide, ativa monócitos e está correlacionado com crises de dor vaso-oclusivas (Perelman *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2014; Gonsalves *et al.*, 2015). O PPAR- α pode ser ativado por bilirrubina, em níveis plasmáticos normais (Gordon *et al.*, 2020; Gordon *et al.*, 2021), um marcador importante de hemólise na AF (Praharaj; Anand, 2021). A bilirrubina age como ligante de PPAR- α , ativando-o no tecido adiposo branco, aumentando a transcrição dos genes de queima de gordura como *CPT1*, *UCP1* e *ADRB3* e o número de mitocôndrias. Juntos, estes diminuem o número de lipídios intracelulares pela β -oxidação de ácidos graxos (Creeden *et al.*, 2021).

Alguns trabalhos, utilizando camundongos quiméricos, associaram PPAR e desenvolvimento de HP na AF (Jang *et al.*, 2021; Lu *et al.*, 2013; Kang *et al.*, 2011; Kalra *et al.*, 2018; Gonsalves *et al.*, 2015; Kang *et al.*, 2017). Lu e colaboradores (2013) identificaram que o PPAR- γ tem sua expressão e atividade diminuídas em presença de hipóxia, através das vias dependentes de ERK1/2, p65 e Nox4. Além disso, concluíram que a hipóxia promoveria o aumento de HP e a proliferação de células do músculo liso da artéria pulmonar humana (Lu *et al.*, 2013). Kang e colaboradores (2017) sugerem que produtos de hemólise na DF, como a hemina, ativam o fator de transcrição ETS1 o que aumenta a expressão de micro RNA 27a (miR-27^a). O miR-27a aumentado leva a redução de PPAR- γ , promovendo aumento de endotelina 1 (ET-1), disfunção endotelial e HP. O uso de rosiglitazona, um agonista de PPAR- γ , atenua aumentos nos níveis de miR-27a e ET-1, bem como disfunção endotelial. Em outro exemplo, o trabalho desenvolvido por Jang e colaboradores (2021), sugere que níveis diminuídos de PPAR- γ , ocasionados pela intensa hemólise na AF, reduzem a expressão do gene *HUWE1*, o que desencadeia o aumento da expressão de fator nuclear- κ B (NF- κ B), que por sua vez amplia níveis de ET-1. Os níveis diminuídos de PPAR- γ também reduzem a expressão do

microRNA 98 (*miR-98*), o que estimula a elevação dos níveis de ET-1. Esse aumento de ET-1 leva a disfunção endotelial que promove o aumento de HP (Jang *et al.*, 2021) (Figura 12).

Figura 12 - Mecanismo de aumento de hipertensão pulmonar na anemia falciforme desencadeado por PPAR- γ



Fonte: adaptado de Jang *et al.*, 2021

Kang e colaboradores (2011) comprovaram que a ativação de PPAR- γ atenua um programa de sinalização de ET-1 induzida por hipóxia pela inibição da ativação de fatores de transcrição responsivos à hipóxia. Estes autores concluíram que o aumento dos níveis de PPAR- γ poderia diminuir a sinalização de ET-1 na HP.

Por sua vez, o estudo de Kalra e colaboradores (2018) aponta a inibição da expressão de ET-1 quando há o aumento de PPAR- α estimulado pelo seu agonista fenofibrato (Kalra *et al.*, 2018). Anteriormente, Gonsalves e colaboradores (2015) revelaram que o fenofibrato aumenta a expressão dos microRNAs *miR-301a* e *miR-454* levando à diminuição de ET-1 e PAI-1. Desse modo, o fenofibrato tem um efeito secundário de reduzir os níveis de fator induzível por hipóxia 1-alfa (HIF-1 α) por induzir a transcrição de *miR-199a2*, que suprime pós-transcricionalmente a síntese de HIF-1 α em células endoteliais da microvasculatura humana (HMEC). Além disso, os autores também demonstraram que altos níveis de ET-1 e PAI-1 são fatores causais para o desenvolvimento de HP na DF, o que pode ser explicado pelo fato de PPAR- α co-regular a transcrição de *SKA2*, *miR-301a* e *miR-454*. O mRNA de ET-1 possui sítios complementares na 3'-UTR para as sequências desses miRNAs, o que revela como a expressão crônica de PlGF, observada em indivíduos com DF e no modelo de camundongo com DF, resulta em expressão anormal de ET-1 e PAI-1 (Gonsalves *et al.*, 2015).

Como na literatura há relatos da influência dos PPARs em algumas condições fisiopatológicas e clínicas da AF (disfunção endotelial, hipertensão pulmonar, crises álgicas) nós hipotetizamos que variantes desses genes podem explicar parte da variabilidade observada na doença. Em outras doenças, polimorfismos em genes *PPARs* foram associados, tais como a síndromes metabólicas e arteriosclerose (Ruscica *et al.*, 2019), infarto isquêmico (Cheng *et al.*, 2021), hipertensão (Cai, *et al.*, 2017) dentre outras (Duszka *et al.*, 2020). Algumas ações dos

genes de *PPAR* estão descritas no quadro 5. Nosso estudo selecionou alguns polimorfismos nesses genes de *PPAR* que serão descritos nas seções a seguir.

Quadro 5 - Resumo de ações dos genes de *PPAR*

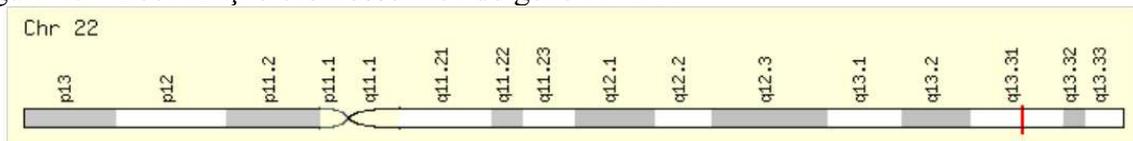
Gene	Ações
<i>PPARA</i>	- Transporte, esterificação e oxidação de ácidos graxos (AG); - Escurecimento do tecido adiposo marrom; - Dissipação de energia.
<i>PPARG</i>	- Transporte de AG; - Síntese lipídica; - Adipogênese; - Armazenamento de energia; - Termogênese (tecido adiposo marrom); - Homeostase da glicose.
<i>PPARD</i>	- Oxidação de AG; - Homeostase da glicose.

Fonte: Christofides *et al.*, 2021

2.6.1 Gene *PPARA* e polimorfismo rs4253747

O gene *PPARA* ilustrado na figura 13, codifica o PPAR- α , um fator de transcrição ativado por ligante que é expresso em humanos no fígado, rim, coração, músculo esquelético e intestino delgado (Bunger *et al.*, 2007; Kersten; Stienstra, 2017).

Figura 13 - Localização cromossômica do gene *PPARA*



Linha vermelha indica a posição do SNP. Gene *PPARA* em localização genômica: bandas de acordo com Ensembl versão 112, localizações de acordo com GeneLoc

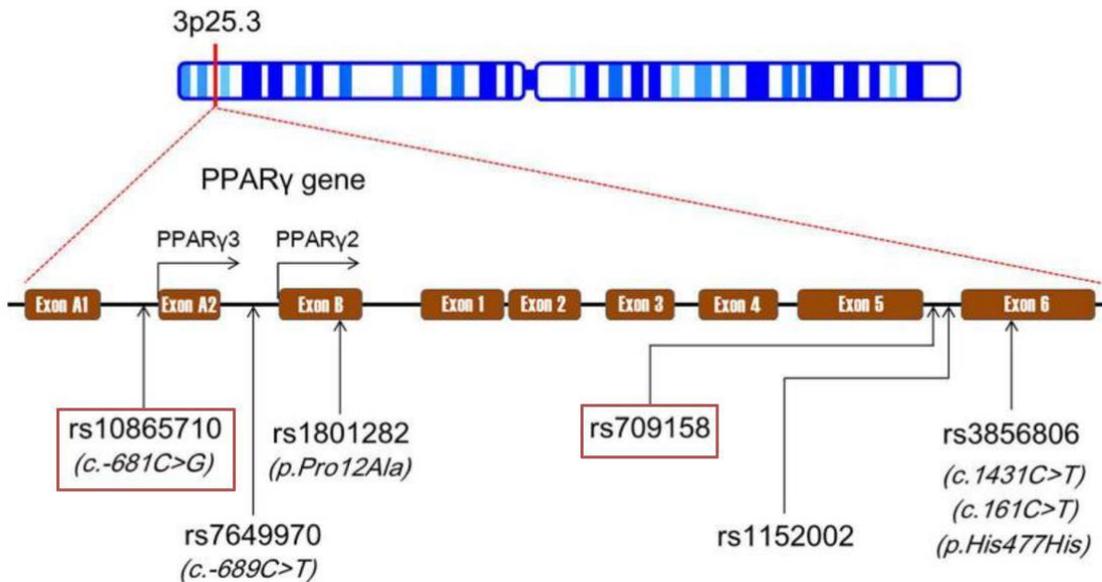
Fonte: Ensembl, 2022a

O PPAR- α é ativado por ácidos graxos dietéticos, eicosanóides, endocanabinóides, (liso)fosfolipídios e várias outras espécies de lipídios, bem como por uma classe de produtos químicos denominados proliferadores de peroxissomo, em especial os fibratos (Kersten; Stienstra, 2017). Gordon e colaboradores (2020) demonstraram que PPAR- α também pode ser ativado pela bilirrubina e que essa se liga seletivamente ao PPAR- α e não interagindo com o PPAR- γ ou o PPAR- δ . Estudos em camundongos mostraram que o PPAR- α atua como regulador mestre do metabolismo lipídico hepático durante o jejum. Além disso, o PPAR- α suprime a inflamação e a resposta inflamatória de fase aguda (Kersten; Stienstra, 2017).

2.6.2 Gene *PPARG* e polimorfismos rs10865710 e rs709158

O gene *PPARG* está ilustrado na figura 14 com indicação de algumas variantes gênicas (Song; Li; He, 2022).

Figura 14 - Paisagem genômica de SNPs no gene *PPARG*.
Cromossomo 3



Nota: SNPs: polimorfismos de nucleotídeo único; *PPAR-γ*: gene do receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma; rs: referência de SNP. Em destaque os polimorfismos escolhidos para o estudo

Fonte: adaptado de Song; Li; He, 2022.

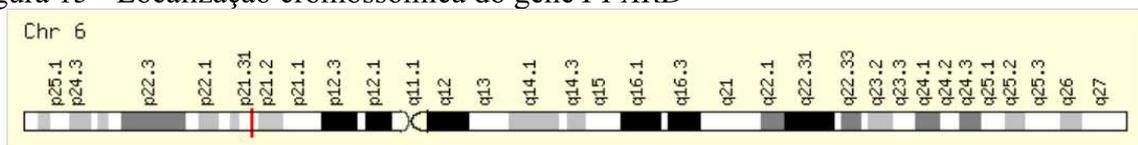
A proteína codificada pelo gene *PPARG* é um regulador da diferenciação dos adipócitos, da via de beta-oxidação peroxissomal dos ácidos graxos, da homeostase da glicose, bem como suprime as respostas pró-inflamatórias mediadas por NF-kappa-B. Ela também desempenha um papel na regulação dos ritmos circadianos cardiovasculares. Foram descritas variantes de transcrição com *splicing* alternativo que codificam diferentes isoformas (Genecards, 2022b; MalaCards, 2022b).

Dentre os polimorfismos descritos no gene *PPARG* estão o rs10865710, também conhecido como -681C>G, variante de transcrição na região 5' e o rs709158 (*PPARG* IVS9 + 4523A > G), variante de transcrição na região 3', localizados no íntron 5 do *PPARG* (Leung *et al.*, 2022; Song *et al.*, 2022a; Song; Li; He, 2022), ambos selecionados para nosso estudo.

2.6.3 Gene *PPARD* e polimorfismo rs2016520

O gene *PPARD* (também conhecido como *PPAR β/δ*) ilustrado na figura 15 (Genecards, 2022d), expressa a proteína PPAR- δ que apresenta como co-ativadores ácidos graxos poliinsaturados, como ácido gama-linoleico e ácido eicosapentanóico. Uma vez ativado, o receptor se liga aos elementos promotores dos genes alvo, agindo como um integrador da repressão transcricional e da sinalização do receptor nuclear. Além disso, regula a via de beta-oxidação peroxissomal de ácidos graxos, funciona como ativador da transcrição para o gene da acil-CoA oxidase, diminui a expressão de *NPC1L1* e tem papel na mielinização do corpo caloso, metabolismo lipídico, diferenciação e proliferação de células epidérmicas (Genecards, 2022d).

Figura 15 - Localização cromossômica do gene *PPARD*



Linha vermelha indica a posição do SNP. Gene *PPARD* em localização genômica: bandas de acordo com Ensembl versão 112, localizações de acordo com GeneLoc.

Fonte: Ensembl, 2022d

No quadro 6 estão descritas algumas características e associações encontradas dos SNPs em genes *PPARs* selecionados para o nosso estudo. As informações contidas no Quadro 6 foram coletadas do banco de variantes gênicas LitVAR², disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/research/litvar2/> e nas bases de dados constante no NCBI – PUBMED e PMC Central. Revisamos os estudos originais disponíveis em inglês publicados a partir de 2017 até 06/2024 e alguns anteriores, mas que obtiveram resultados importantes para nosso estudo. Os termos de pesquisa incluíram as rs dos polimorfismos rs4253747 de *PPARA*, rs10865710 e rs709158 de *PPARG* e rs2016520 de *PPARD*. Após a exclusão dos artigos duplicados, dos que não abordavam os SNPs, as revisões e os artigos que não encontraram associação com os SNPs, fizemos a leitura e análise de um artigo sobre o rs4253747 em *PPARA*, 14 do rs10865710 em *PPARG*, 1 do rs709158 em *PPARG* e 22 do rs2016520 em *PPARD*.

Quadro 6 – Associação entre os polimorfismos nos genes dos Receptores Ativados por Proliferação de Peroxissomos (PPAR) selecionados para o presente estudo (rs4253747 de *PPARA*, rs10865710 e rs709158 de *PPARG* e rs2016520 de *PPARD*).

Tipo de estudo, população, tamanho amostral	Associações	Referência
<i>PPARA</i> rs4253747 (A/T)		
Coorte observacional Homens Chineses Han n = 416	Alelo A - aumento do risco de perda de apetite por alta altitude (ajuste para idade e saturação de oxigênio).	Pan <i>et al.</i> , 2019
<i>PPARG</i> rs10865710 (G/C)		
Estudo transversal Inuit n = 553 (251 homens e 302 mulheres)	Alelo C - associado ao aumento de colesterol total (CT) e LDL-C em grupos com maior ingestão de gordura total e maior ingestão de gordura saturada.	Rudkowska <i>et al.</i> , 2013
Caso controle Chineses Participantes asmáticos (n = 430) e indivíduos saudáveis (n = 452)	Alelo G - associado a redução do risco de asma	Li <i>et al.</i> , 2015
Estudo transversal Chineses Han n = 820 indivíduos (270 homens e 550 mulheres)	Genótipo CC - associado a aumento de LDL	Fan <i>et al.</i> , 2015
Caso controle Chineses Han Participantes infantis com asma brônquica (n = 143) e crianças saudáveis (n = 143)	Alelo C - associado a risco aumentado de asma brônquica. O haplótipo C/C rs1805192_rs10865710 em <i>PPARG</i> foi significativamente associado com os níveis elevados de IL-5.	Zhang; Wang; Ma, 2017
Caso controle Chineses Participantes com DAC (n = 550) e indivíduos controle (n = 556)	Alelo C - associado a maior susceptibilidade a DAC	Zhang <i>et al.</i> , 2017
Coorte Chineses Han - Participantes com epilepsia, recebendo tratamento com Valproato (VPA) n = 225	Alelo C - menor propensão a obesidade induzida por VPA em comparação com os portadores do genótipo GG.	Bai <i>et al.</i> , 2018
Caso-controle de base populacional Chineses - Indivíduos com DM2 n total = 268	Genótipo CC diminuiu o risco para deficiência visual leve em indivíduos com DM2.	Li <i>et al.</i> , 2019
Coorte Chineses Han de Chongqing e Guizhou com trauma (lesões graves) n total = 1.131	Alelo G - fortemente associado ao risco aumentado de maior morbidade por sepse em pacientes com trauma das coortes de Chongqing e Guizhou.	Lu <i>et al.</i> , 2019
Coorte Chineses Han - Participantes com trauma (lesão) grave n = 1.000	Alelo G - relacionado ao risco de sepse em nível nominal	Lu <i>et al.</i> , 2020
Caso controle Chineses Han - Participantes divididos em grupos DM2, DAC, DM2 complicado com DAC n total = 635	Alelo G - em indivíduos com DM2 apresentaram níveis mais altos de glicose, triglicerídeos, apolipoproteína B (ApoB) e lipoproteína (a) (Lp(a)). Alelo G - em indivíduos diabéticos e com doença arterial coronariana (DAC) apresentaram níveis mais elevados de colesterol total (TC), ApoB e Lp(a).	Song <i>et al.</i> , 2022a

	SNP rs10865710 significativamente associado à gravidade da DAC, que é possivelmente mediada por hiperlipidemia e hiperglicemia.	
Duplo-cego cruzado Participantes sensibilizados por alérgenos expostos por três horas a dibutil ftalato e controle de ar em ocasiões distintas n = 16	Genótipo GG - conferiu a maior redução no risco para asma.	Leung <i>et al.</i> , 2022
Caso controle Chineses Han Participantes com carcinoma escamoso oral (n = 258) e indivíduos livres de câncer (n = 236)	Alelo G - reduziu a probabilidade de recaída; foi associado a pior sobrevida global em pacientes com carcinoma escamoso oral, mas não aumentou o risco de recorrência de carcinoma escamoso oral. <i>PPARG</i> rs10865710, mostrou atividade eQTL dentro das sequências de ligação ao fator de transcrição.	Yuan <i>et al.</i> , 2023
Coorte Caucasiana - Participantes com infecção crônica pelo vírus da hepatite B n = 284	Genótipo CC - independentemente associado à suscetibilidade à fibrose hepática avançada.	Rybicka, <i>et al.</i> , 2023
Caso controle Chineses Han - Indivíduos com ou sem carcinoma de glândula salivar, ameloblastoma e ceratocisto odontogênico n total = 411	Alelo C - relacionado à diminuição da suscetibilidade ao carcinoma de glândula salivar e a metástases em linfonodos inferiores.	Zheng <i>et al.</i> , 2023
<i>PPARG</i> rs709158 (A/G)		
Coorte de base comunitária Caucasiana n = 9.364 (homens e mulheres)	Genótipo AA - associado a CT basal superior a 240 mg/dL. Não foi encontrada associação deste polimorfismo com morbidade e mortalidade cardiovascular.	Gallicchio <i>et al.</i> , 2008
<i>PPARD</i> rs2016520 (T/C) ou (A/G nas referências mais antigas)		
Coorte de base comunitária Caucasiana n = 9.364 homens e mulheres	Alelo T - associado a CT basal superior a 240 mg/dL, sem uso de medicação.	Gallicchio <i>et al.</i> , 2008
Caso-controle Chineses Han n = 864 participantes (256 pacientes, 114 pacientes com tumores cerebrais e 142 pacientes com hemorragia intracerebral; 609 controles)	Genótipo TT (AA no artigo) apresentou maiores níveis circulantes de LDL na hemorragia intracerebral. Genótipos TT e TC (AA e AG no artigo) evidenciaram que concentrações maiores de LDL estavam associadas com casos de tumor cerebral.	Huang <i>et al.</i> , 2015
Estudo de caso-controle Chineses Han Doença coronariana (n = 657) e controles (n = 640)	Alelo C (G no artigo) - reduziu o risco de DAC em 17,9%. A análise por idade sugeriu que o alelo C (G) diminuiu o risco de DAC em 14,8% em idades superiores a 65 anos em população chinesa Han. Também foi encontrada associação entre o nível sérico de HDL em idosos com idade ≥ 65 anos.	Ye <i>et al.</i> , 2015
Transversal Chineses Han n = 1.028 indivíduos (538 homens, 490 mulheres)	Genótipos TC ou CC - associado à diminuição do nível de proteína C reativa (PCR).	Ding <i>et al.</i> , 2016
Estudo base populacional Chineses Han n = 1.409	O alelo C (G no artigo) mostrou-se protetor a fatores de risco metabólico. O polimorfismo rs2016520 pode ter impacto no metabolismo da glicose, uma vez que foi associado à glicemia de jejum e à insulina, índices de resistência à insulina,	Tang <i>et al.</i> , 2016

	melhorando a resistência e a sensibilidade à insulina.	
Caso controle Chineses Han n = 1.048 indivíduos (617 homens, 431 mulheres), incluindo 520 pacientes com DCV e 528 controles normais	Alelo C - associado à diminuição do risco de DCV	Yang <i>et al.</i> , 2017
Caso controle Mexicanos Indivíduos diagnosticados com adenocarcinomas colorretais n= 178 (83 mulheres e 95 homens) e controles saudáveis n = 97	Genótipo TC - papel protetor na suscetibilidade ao Câncer de Cólon Retal ou um efeito atenuante na carcinogênese colorretal. Alelo C - risco aumentado de câncer, com significância estatística para câncer de cólon ou de reto.	Rosales-Reynoso <i>et al.</i> , 2017
Caso controle População indiana n = 352 casos de DM2 e 351 controles saudáveis	Genótipo CC - em indivíduos com DM2 com > 25 anos de início, foi associado à suscetibilidade ao DM2	Raj <i>et al.</i> , 2017
Revisão sistemática Estudos de diversas populações	Genótipo CC - menor aumento induzido pelo treinamento no consumo máximo de oxigênio e uma menor resposta ao treinamento em potência máxima em comparação com os genótipos CT e TT, tanto em negros quanto em brancos. Genótipo CC - mostraram os maiores aumentos nos níveis de HDL-C (sujeitos brancos) e Apo A-1 (sujeitos negros)	Petr <i>et al.</i> , 2018
Coorte Mulheres caucasianas polonesas n = 162	Alelo C - associação à diminuição significativa do colesterol total através do programa de treinamento de 12 semanas com uma diminuição concomitante de triglicerídeo. Genótipo TT - triglicerídeo aumentou significativamente em resposta ao treinamento	Leońska-Duniec <i>et al.</i> , 2018
Caso controle e meta análise Crianças chineses Han n = 2244	Alelo C - exerceu associação significativa com desempenho de equilíbrio dinâmico e foi confirmado em uma meta-análise combinando coortes caucasianas	Cao <i>et al.</i> , 2019
Revisão sistemática 27 estudos de diversas populações	Alelo C - associado ao status de atleta de elite de resistência em comparação com o status de atleta sub elite.	Petr <i>et al.</i> , 2019
Observacional Chineses Participantes com câncer colo retal (CCR) n = 106	A heterogeneidade intratumoral de <i>PPARD-87 T>C</i> existia amplamente no CCR e estava associada à idade dos participantes, localização e diferenciação do tumor. No entanto, o ensaio imunológico revelou que não há ligação significativa entre heterogeneidade e expressão de <i>PPARD</i> .	Luo <i>et al.</i> , 2019
Caso-controle Chineses Han Participantes com glioma (n = 568) e controles saudáveis (n = 509)	Alelo C - significativamente associado ao risco de glioma em vários modelos no subgrupo de idade > 40 e astrocitoma.	Ding <i>et al.</i> , 2020
Coorte prospectiva Chineses Participantes com DM2 n = 60	Alelo C - associado à menor redução na glicose pós-plasmática (PPG) em participantes com diabetes mellitus tipo 2 após o tratamento com nateglinida por 8 semanas consecutivas. Ou seja, indivíduos com alelo C podem ser menos responsivos ao tratamento com nateglinida.	Wang <i>et al.</i> , 2021
Coorte Indivíduos com IMC >25 kg/m ² com comorbidade n=	Alelo C - associado à perda de peso (IMC, circunferência da cintura e metabolismo do colesterol)	Sinha <i>et al.</i> , 2021

393 (pré-diabetes, diabetes, doença cardiovascular ou hipertensão) ou IMC >30 kg/m ² , independente de comorbidades		
Caso-controle Chineses Participantes com DM2 n = 300 e controles n = 200	Alelo C - menores níveis de avaliação do modelo de homeostase para resistência à insulina (HOMA-IR) após 6 meses de monoterapia com exenatida. Genótipo TT conferiu baixa resposta à exenatida por meio de uma redução da resistência à insulina, medida por HOMA-IR.	Song, <i>et al.</i> , 2022b
Caso-controle combinado Chineses Han Casos de obesidade n = 311 e controles n = 118	Alelo T - de risco de obesidade ajustado para a faixa etária e sexo.	Huang, <i>et al.</i> , 2022
Revisão sistemática Estudos de diversas populações	Alelo C - associado a níveis mais elevados de triglicérides e colesterol total nos asiáticos orientais (risco de hipercolesterolemia), mas níveis mais baixos de triglicérides nos asiáticos ocidentais do que nos homozigotos TT.	Li <i>et al.</i> , 2023
Estudo exploratório Atletas masculinos de atletismo n = 137 (51 velocistas e saltadores, 59 corredores de longa distância e 27 decatletas)	Genótipo CC - associado ao desempenho de resistência em comparação com corredores de longa distância	Rommel <i>et al.</i> , 2023
Estudo transversal Mexicanos n = 314 pessoas diagnosticados com DM2	Alelo C - maior TG e VLDL e tendeu a ter valores aumentados de circunferência da cintura, glicemia plasmática em jejum e HbA1	Reza-López <i>et al.</i> , 2023
Retrospectivo População multiétnica n = 9.372 pessoas submetidas a tratamento para perda de peso	Alelo C - demonstrou correlação significativa com perda de peso para todos os tipos de tratamento.	Mera-Charria, <i>et al.</i> , 2023

SNP: polimorfismo de nucleotídeo único; rs: referência de SNP; DM2: Diabete Mellitus tipo 2; DAC: Doença Arterial Coronariana; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; TG: triglicérides

3. OBJETIVOS

Investigar associações das variantes dos genes de receptores ativados por proliferação de peroxissomos (*PPAR*) e variante regulatória dos genes de subunidade alfa da hemoglobina 1 e 2 (*HBA1/2* do inglês Hemoglobin Subunit Alpha 1/2) rs11865131 com variáveis laboratoriais e clínicas em uma população pediátrica com anemia falciforme, acompanhada no Hemocentro Regional de Governador Valadares, MG, considerando o efeito de alfa-tal e da terapia com HU.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Descrever o perfil demográfico, laboratorial e clínico dos indivíduos com AF participantes do estudo.
- ii. Realizar análises de associação e correlação dos dados hematológicos, bioquímicos e clínicos dos participantes com AF em relação à terapia de HU.
- iii. Estimar as frequências alélicas e genóticas das variantes nos genes *PPARA*, *PPARG*, *PPARD* e variante regulatória dos genes *HBA1/2* rs11865131 dos participantes com AF.
- iv. Verificar a associação dos genótipos das variantes de *PPARA*, *PPARG*, *PPARD* e variante regulatória rs11865131 dos genes *HBA1/2* em modelos de ação gênica em relação às variáveis hematológicas, bioquímicas e clínicas levando em consideração a terapia de HU.
- v. Estimar a frequência de alfa-tal nos participantes com AF.
- vi. Verificar a associação das variáveis hematológicas, bioquímicas e clínicas em relação a herança de alfa-tal e dos genótipos da variante rs11865131 levando em consideração a terapia de HU.

4. MATERIAL E MÉTODOS

A presente tese refere-se a um estudo retrospectivo que contou com amostras de Biorrepositório e banco de dados contendo informações demográficas, clínicas e laboratoriais, a partir dos quais, foram realizadas análises genéticas e estatísticas, respectivamente.

4.1 POPULAÇÃO ESTUDADA E ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi realizado a partir de dados retrospectivos de uma população pediátrica com anemia falciforme (genótipo HbSS), nascidos entre 01/01/1998 e 31/12/2014 triados pelo Programa Estadual de Triagem Neonatal - Minas Gerais (PETN-MG) e encaminhados para tratamento inicial e acompanhamento no Hemocentro Regional de Governador Valadares (HRGV) da Fundação Hemominas. Realizaram-se análises retrospectiva de prontuário médico e laboratoriais com testes moleculares e bioquímicos, no período de 2016 a 2020.

A utilização de grupo vulnerável se deve ao fato de que foram estudados apenas pacientes triados pelo teste de triagem neonatal por ser o grupo que possui seguimento documentado desde o nascimento, seguem o mesmo protocolo de tratamento e os dados clínicos e laboratoriais que foram avaliados são mais confiáveis.

Todos os indivíduos com AF (HbSS) com amostras de DNA constantes no Biorrepositório, referentes aos Projetos: “Estudos diagnóstico e avaliativo de biomarcadores de dislipidemias em indivíduos com doença falciforme (genótipos HbSS e HbSC) acompanhados nos hemocentros de Governador Valadares e de Uberaba/Fundação Hemominas” registrado e aprovado nos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) sob Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) nº 82449917.7.0000.5147 e no CEP da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) (parecer nº 2.521.811) e sob CAAE nº 82449917.7.3001.5118 no CEP da Fundação Hemominas (parecer nº 3.556.803) e “Avaliação do Crescimento de indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares” registrado e aprovado nos CEPs da Fundação Hemominas CAAE nº 78011417.4.3001.5118 (parecer nº 2.666.921) e da UFJF CAAE nº 78011417.4.0000.5147 (parecer nº 2.435.402), que também possuíam dados presentes em banco de dados do mesmos projetos.

As amostras de DNA, bem como os bancos de dados foram cedidos ao Projeto de pesquisa “Estresse oxidativo e inflamatório na anemia falciforme” registrado e aprovado nos CEP, CAAE UFJF nº 32709020.0.0000.5147 (parecer nº 4.457.057), CAAE Hemominas nº 32709020.0.3001.5118 (parecer nº 4.499.047).

4.1.1 Critérios de exclusão do estudo

Indivíduos que não possuíam amostra de DNA no Biorrepositório ou não possuíam variáveis no banco de dados foram excluídos, além dos critérios de exclusão dos outros projetos:

- Identificação de alguma doença ou síndrome não avaliada na pesquisa, como as displasias esqueléticas, síndrome de Turner ou doenças crônicas não relacionadas à AF;
- Presença de alguma condição predisponente para a deficiência de GH, como lesão intracraniana e irradiação do sistema nervoso central;
- Deficiência intelectual acentuada, definida por limitação intelectual que curse com prejuízo significativo da independência pessoal esperada para a faixa etária (Mata, 2018), conforme informado pelos responsáveis no momento da avaliação clínica;
- Falta de anuência do responsável com a não assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e/ou a recusa da criança/adolescente em participar do estudo;
- Gestação;
- Uso de suplementos de vitaminas A e D e de medicamentos hipolipemiantes;
- Presença de comprometimento crônico de órgãos que venham a interferir nos parâmetros avaliados tais como diabetes mellitus e infecção grave (vírus da imunodeficiência humana - HIV, hepatite, sífilis);
- Indivíduos com outros subtipos de doença falciforme, ($S\beta^+$ -talassemia, $S\beta^0$ -talassemia, SD, SC, SJ e persistência hereditária de HbF).

4.2 ANÁLISES MOLECULARES

Duas técnicas de análises moleculares foram utilizadas. Os itens 4.2.1 e 4.2.2 contemplam detalhadamente cada uma destas técnicas.

4.2.1 Genotipagens dos polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs)

Todas as amostras de DNA genômico (gDNA) foram quantificadas e o grau de pureza foi determinado no espectrofotômetro *Nano Vue plus* (GE[®]). A amostra foi previamente incubada à 56°C durante 5 minutos em banho seco e homogeneizada para garantir a solubilidade do gDNA. Uma alíquota de dois µL da amostra de gDNA foram depositados no espectrofotômetro previamente calibrado com tampão AE. O grau de pureza foi determinado a partir das razões dos valores de absorbância nos comprimentos de onda 260 nm / 280 nm (A260/A280) e 260 nm / 230 nm (A260/A230). Amostras com razão A260/A280 de 1,7 - 1,9 e razão A260/A230 de 1,5 - 2,5 foram incluídas para análises posteriores. No momento de uso, o gDNA armazenado a -20°C foi diluído com água ultrapura, livre de DNase e RNase para a concentração de 5 ng/µL, requerida nas análises posteriores.

Para os ensaios de genotipagens de SNPs foi utilizada a metodologia de Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa (qPCR do inglês *quantitative Polymerase Chain Reaction*), baseada em fluorescência usando sondas TaqMan MGB e um par de iniciadores de PCR para detectar alvos SNPs específicos (ThermoFisher[®]) validados. Estes ensaios foram desenvolvidos na plataforma do sistema da 7500 Fast Real-Time PCR (Applied Biosystems[®]). As sondas que distinguem os dois alelos do SNP, marcadas com fluoróforos VIC/MGB-NFQ (alelo 1) ou FAM/MGB-NFQ (alelo 2), na concentração de 40X foram diluídas duas vezes em tampão TE (20 µL de Tris 100 mM e dois µL de EDTA 100 mM). Em um microtubo, foram adicionados solução Master Mix TaqMan[®] GTXpress[™] Master Mix (2X), sonda (20X), água ultrapura, livre de DNase e RNase com volumes calculados para o volume total de ensaios e de acordo com as especificações do fabricante. Uma alíquota de seis µL desta mistura foram aliqüotados em microplaca e adicionados, em cada poço correspondente a um teste individual, 20 ng de gDNA (5 ng/µL). No equipamento Termociclador 7500 Fast (Applied Biosystems[®]) foi definido o programa de amplificação nos seguintes ciclos de temperatura: Pré qPCR: 60°C por 1 minuto e 95 °C por 20 segundos, seguindo-se de 40 ciclos a 95 °C por 3 segundos e 60 °C por 30 segundos e uma etapa final de 60 °C por 1 minuto. Os resultados da amplificação e a determinação dos genótipos foram obtidos com auxílio da plataforma Thermo Fisher Cloud disponível em: <<https://apps.thermofisher.com/apps/dashboard/#/>>.

Foi levado em consideração para a seleção dos SNPs, o valor da frequência do alelo raro ou de menor frequência (MAF) maior que 5% em vários grupos étnicos, sua associação com lipídeos e inflamação, além da existência de sondas testadas e validadas. Informações dos polimorfismos escolhidos para nosso estudo e as informações como referência de variante ou polimorfismo de único nucleotídeo (SNV ou SNP do inglês - *Single Nucleotide Variant* ou *Polimorphism*), variação, localização cromossômica e frequência global do MAF estão descritos nos quadros 7 e 8.

Quadro 7 - Dados dos SNPs avaliados nas genotipagens por discriminação alélica em qPCR

Gene / Loco	Referência SNP	Alelo do SNP e fluorocromo	Número do Ensaio (Applied Biosystems®)
<i>NPRL3</i>	rs11865131	A/G - VIC/FAM	C 1232695 10
<i>PPARA</i>	rs4253747	A/T - VIC/FAM	C 29935223 10
<i>PPARG</i>	rs10865710	C/G - VIC/FAM	C 9384417 10
<i>PPARG</i>	rs709158	A/G - VIC/FAM	C 8756550 10
<i>PPARD</i>	rs2016520	C/T - VIC/FAM	C 8851952 30

Nota: SNP: polimorfismo de único nucleotídeo

Quadro 8 - Descrição das variantes dos genes *NPRL3*, *PPARA*, *PPARG* e *PPARD* selecionados para o estudo

Gene/loco	rs e variação dos nucleotídeos	Localização cromossômica do SNP	MAF global
<i>NPRL3</i> NC_000016.10	rs11865131 G/A variante de Íntron	16p13.3 Posição: chr16:113668 (GRCh38/hg38)	A = 0,29
<i>PPARA</i> NC_000022.11 (46150526.46243756)	rs4253747 T/A variante de Íntron	22q13.31 Posição: chr22:46217340 (GRCh38.p13)	A = 0,29
<i>PPARG</i> NC_000003.12 (12287368.12434344)	rs10865710 C/G variante de Íntron	3p25.2 Posição: chr3:12311699 (GRCh38.p13)	G = 0,26
	rs709158 A/G variante de Íntron	3p25.2 Posição: chr3:12421677 (GRCh38.p13)	G = 0,24
<i>PPARD</i> NC_000006.12 (35342558.35428178)	rs2016520 C/A/T variante de Íntron	6p21.31 Posição: chr6:35411001 (GRCh38.p13)	C = 0,23

Nota: MAF= frequência do alelo de menor frequência.

Fonte: 1000 GENOME; Genecards, 2022a; Genecards, 2022b; Genecards, 2022c; Genecards, 2022d; MalaCards, 2022a; MalaCards, 2022b; MalaCards, 2022c; MalaCards, 2022d; Omim, 2022a; Omim, 2022b; Omim, 2022c; Omim, 2022d. Ensembl, 2022a; Ensembl, 2022b; Ensembl, 2022c; Ensembl, 2022d.

4.2.2 Genotipagem de Alfa talassemia

A genotipagem de alfa-tal para a detecção de duas mutações deletionais dos genes *HBA1* e *HBA2* foi realizada: a variante deletional de 3.700 pares de bases (pb) ($\alpha^{-3.7Kb}$) e a de 4.200 pb ($\alpha^{-4.2Kb}$) por apresentarem maior frequência na população de Minas Gerais. Os ensaios de genotipagem foram realizados por gap-PCR múltipla com reagentes do Kit comercial de PCR Multiplex Qiagen® e oligonucleotídeos sintéticos específicos para cada uma das deleções analisadas causadoras de alfa-tal (Tan *et al.*, 2001). O controle positivo da amplificação do gDNA foi um segmento de 2.350 pb, referente à região 3' não transcrita do gene *LIS1* do fator plaquetário. No quadro 9 estão descritos os oligonucleotídeos utilizados nos ensaios de genotipagens.

Quadro 9 - Dados dos oligonucleotídeos utilizados na reação de genotipagens da alfa-tal

Nome	oligonucleotídeo 5'-3'	Concentração	Tamanho esperado do fragmento
LIS1-F	ATACCATGGTTACCCCATGAGC	0,5 μ M	2350 pb
LIS1-R	AGGGCTCATTACATGTGGACCC	0,5 μ M	
$\alpha 2/\alpha$ -3.7-F	CCCCTCGCCAAGTCCACCC	0,2 μ M	2022/2029 pb
α -3.7/ α - $\alpha 2$ -R	AGACCAGGAAGGGCCGGTG	0,2 μ M	1800 pb
α -4.2- F	GTTTACCCATGTGGTGCCTCC	0,5 μ M	1628 pb
α -4.2 R	CCCGTTGGATCTTCTCATTCC	0,5 μ M	

μ M = micro molar; pb: pares de base.

Fonte: Adaptado de Chong *et al.*, 2000.

Nos ensaios de gap-PCR múltipla utilizaram-se 12,5 μ L de Master Mix Qiagen® na concentração 2X, 2,5 μ L de *Q solution*, mistura de oligonucleotídeos nas concentrações descritas na Tabela 8. Em cada microtubo teste foram adicionados 4 μ L de gDNA com concentração mínima de 50 ng/ μ L. O volume final da reação foi de 25 μ L. A reação da gap PCR foi realizada em Termociclador modelo Veriti (Applied Biosystems®), programado para os ciclos de temperatura: inicial de 96 °C por 15 minutos; seguido de 30 ciclos de 30 segundos a 98 °C para desnaturação do gDNA, 62 °C por 90 segundos para anelamento dos oligonucleotídeos e 72°C durante 135 segundos para extensão do DNA e extensão final a 72 °C por 5 minutos. Para a resolução dos fragmentos amplificados e definição do genótipo, 10 μ L do material amplificado contendo 1 μ L do corante fluorescente Gel Red® e 2 μ L de *Loading dye* foram aplicados na canaleta do gel de agarose 1% (m/v). Em seguida, o gel foi acondicionado em uma cuba contendo tampão Tris/Ácido acético/ EDTA (TAE) 1X e realizada a corrida de eletroforese a 90 volts durante duas horas. Após o fim da corrida, as bandas dos fragmentos amplificados foram

visualizadas sob luz ultravioleta e a imagem do gel captada no sistema de foto documentação Gel Doc™ XR+ (Bio Rad®). A determinação do genótipo foi realizada de acordo com o tamanho dos fragmentos amplificados em comparação com um padrão de massa molecular na faixa de 250 pares de base (bp) a 10000pb (Kasvi®).

4.3 BANCO DE DADOS LABORATORIAL E CLÍNICO

O banco de dados foi construído a partir de análises hematológicas, bioquímicas e clínicas. As análises laboratoriais foram realizadas nos laboratórios da Fundação Hemominas (extraídos dos registros médicos dos participantes e compilados em um formulário específico) ou em laboratório contratado credenciado e acreditado. As informações sobre o local em que foi realizada a análise, metodologia, valores de referência e kit/equipamento estão especificadas no quadro 10. Para os exames extraídos de prontuário, foram realizadas médias dos valores dos 3 últimos resultados, respeitando a terapia com e sem HU. Nas análises estatísticas foram utilizadas as médias dos resultados com terapia com HU, quando o indivíduo estava em tratamento e sem HU, quando o indivíduo não estava em terapia com HU.

Os resultados dos exames hematológicos e bioquímicos datados no período de 90 dias após transfusões sanguíneas ou de eventos clínicos significativos, tais como crise de dor, infecção grave, sequestro esplênico agudo e crise aplástica, não foram coletados.

Para a realização dos exames bioquímicos incluindo o lipidograma, os participantes da pesquisa foram orientados a manter uma dieta habitual nos dias que antecederam a avaliação, mantendo jejum de 10-12 horas, e sem atividade física vigorosa nas 24 horas anteriores à coleta. Antes da coleta foi confirmado o jejum do paciente, se o paciente tinha passado por transfusão sanguínea nos últimos três meses e se estava em crise de dor no momento da coleta. Consideramos que os participantes no dia da consulta de rotina no Hemocentro se encontravam em estado clínico estável, visto que, em situação clínica aguda estes eram encaminhados para atendimento de urgência/emergência. A punção venosa na prega do cotovelo foi realizada no dia da consulta ao Hemocentro, entre 7:00 e 10:00 horas, antes da avaliação médica. O participante permaneceu sentado por pelo menos 10 a 15 minutos para evitar variações ortostáticas da volemia e garantir a consistência das dosagens.

Amostras de 4,5 mL de sangue venoso foram acondicionadas em tubos com gel separador, com ativador de coagulação. O soro foi imediatamente separado por

centrifugação, e as análises bioquímicas foram realizadas conforme metodologia especificada no quadro 10, em laboratório de análises clínicas conveniado e acreditado, com base nos requisitos estabelecidos na norma ABNT NBR NM ISO 15189.

Quadro 10 - Informações sobre análises laboratoriais e clínicas

Exame	Onde foi realizado / coletado	Metodologia	Valor de Referência	Kit/ Equipamento	Referência
Fe	Hemominas BH / Prontuário	Espectrofotométrica	Ferro: homem: 65 a 175 µg/dL; mulher: 50 a 170 µg/dL	WIENER®	Wiener Lab, 2000; Hemominas, 2018
Fer	Hemominas BH / Prontuário	Turbidimétrica	Ferritina: 6 meses a 15 anos: 7-142 µg/L Homem > 15 anos: 30-220 µg/L Mulher > 15 anos: 20-110 µg/L	EBRAM®	Ebram, 2014; Hemominas, 2018
HbF	Hemominas BH / Prontuário	Cromatografia líquida de alta eficiência		BIORAD®	Hemominas, 2018
Hb	Hemominas GV / Prontuário	Tecnologia de impedância e fotometria	11,00-16,5 g/dL	ABX Micros 60 da marca HORIBA®	Hemominas, 2018
Ht	Hemominas GV / Prontuário	Tecnologia de impedância e fotometria	35-45%	ABX Micros 60 da marca HORIBA®	Hemominas, 2018
VCM	Hemominas GV / Prontuário	Tecnologia de impedância e fotometria	80-97 fL	ABX Micros 60 da marca HORIBA®	Hemominas, 2018
HCM	Hemominas GV / Prontuário	Tecnologia de impedância e fotometria	26,5-33,5 pg	ABX Micros 60 da marca HORIBA®	Hemominas, 2018
LG	Hemominas GV / Prontuário	Tecnologia de impedância e fotometria	3500-10000 /mm ³	ABX Micros 60 da marca HORIBA®	Hemominas, 2018
Neu	Hemominas GV / Prontuário	Tecnologia de impedância e fotometria	595-4800/mm ³	ABX Micros 60 da marca HORIBA®	Hemominas, 2018
Mon	Hemominas GV / Prontuário	Tecnologia de impedância e fotometria	300-800/mm ³	ABX Micros 60 da marca HORIBA®	Hemominas, 2018
Pla	Hemominas GV / Prontuário	Tecnologia de impedância e fotometria	150000-390000/mm ³	ABX Micros 60 da marca HORIBA®	Hemominas, 2018
Ret	Hemominas GV / Prontuário	Coloração com azul de cresil brilhante 1%	Adulto: 0,5-1,5%	Microscópio óptico Olympus®	Hemominas, 2018

APOA1	Laboratório contratado	Imunoturbidimetria	Aceitável: >120 mg/dL Limítrofe: 115-120 mg/dL Baixo: <115 mg/dL	Analizador Bioquímico Cobas Mira Plus	National Heart, Lung and Blood Institute, 2012
APOB	Laboratório contratado	Imunoturbidimetria	Aceitável: < 90 mg/dL Limítrofe: 90-109 mg/dL Alto: ≥ 110 mg/dL	Analizador Bioquímico Cobas Mira Plus	National Heart, Lung and Blood Institute, 2012
CT	Laboratório contratado	Dosado diretamente, pelo método enzimático colesterol oxidase/peroxidase em aparelho espectrofotométrico	Aceitável: < 170 mg/dL Limítrofe: 170-199 mg/dL Alto: ≥ 200 mg/dL	Analizador Bioquímico Cobas Mira Plus	National Heart, Lung and Blood Institute, 2012
LDL	Calculado: $LDL = CT - HDL - TG/5$		Aceitável: < 110 mg/dL Limítrofe: 110-129 mg/dL Alto: ≥ 130 mg/dL		National Heart, Lung and Blood Institute, 2012
Não-HDL	Laboratório contratado	Determinado pela equação: $Não-HDL = \text{Colesterol total} - HDL$	Aceitável: < 120 mg/dL Limítrofe: 120-144 mg/dL Alto: ≥ 145 mg/dL	Fórmula	National Heart, Lung and Blood Institute, 2012
HDL	Laboratório contratado	Dosado diretamente, pelo método reativo precipitante	Aceitável: > 45 mg/dL Limítrofe: 40-45 mg/dL Baixo: < 40 mg/dL	Analizador Bioquímico Cobas Mira Plus	National Heart, Lung and Blood Institute, 2012
TG	Laboratório contratado	Dosado diretamente, por método enzimático	0-9 anos: Aceitável: < 75 mg/dL Limítrofe: 75-99 mg/dL Alto: ≥ 100 mg/dL 10-19 anos: Aceitável: < 90 mg/dL Limítrofe: 90-129 mg/dL Alto: ≥ 130 mg/dL	Analizador Bioquímico Cobas Mira Plus	National Heart, Lung and Blood Institute, 2012
BD	Laboratório contratado	Dosado diretamente por método de Sims/ Horn	< 0,4 mg/dL	Analizador Bioquímico Cobas Mira Plus	Soldin; Brugnara; Wong, 2005 <i>Apud</i> Labtest, 2014

BI	Laboratório contratado	Sims/ Horn por fórmula: Bilirrubina Indireta = Bilirrubina Total – Bilirrubina Direta	0,60- 0,90 mg/dL	Fórmula	Soldin; Brugnara; Wong, 2005 <i>Apud</i> Labtest, 2014
BT	Laboratório contratado	Dosado diretamente por método de Sims/ Horn	< 1,20 mg/dL	Analizador Bioquímico Cobas Mira Plus	Soldin; Brugnara; Wong, 2005 <i>Apud</i> Labtest, 2014
LDH	Laboratório contratado	Enzimático colorimétrico	2-15 anos: 125,00 a 220,00 U/L	Analizador Bioquímico Cobas Mira Plus	Pagani, <i>et al.</i> , 2003; Clinical Chemistry, 2011
VMM	Hemominas BH / Prontuário	Ultrassom para medir indiretamente o fluxo nas porções proximais das principais artérias intracranianas (pertencentes ao polígono de Willis)	Normal: < 170 cm/s Condicional baixo: 170-184 cm/s Condicional alto: 185-199 cm/s Anormal: ≥200 cm/s		Lobo <i>et al.</i> , 2011 Adams <i>et al.</i> , 1998

Nota: BH: Belo Horizonte; GV: Governador Valadares; Fe: ferro; Fer: ferritina; HbF: hemoglobina Fetal; Hb: hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; LG: leucometria global; APOA1: apolipoproteína A1; APOB: apolipoproteína B; CT: colesterol total; Não-HDL: não lipoproteína de alta densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídios; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; BT: bilirrubina total; LDH: lactato desidrogenase.

As variáveis clínicas obtidas do prontuário médico dos participantes incluíram: os resultados do Doppler Transcraniano (DTC), informações sobre transfusão, número de internações e ocorrência de crises álgicas. Além disso, durante às consultas e antes da coleta de sangue, foi questionado aos participantes a ocorrência de algum desses eventos nos últimos 6 meses.

Extraiu-se do prontuário médico o resultado do DTC realizado até o último ano da data da coleta do dado. A classificação do DTC foi realizada conforme o estudo STOP (Adams *et al.*, 1998) e o resultado do fluxo sanguíneo cerebral em cada vaso foi armazenado no banco de dados. Utilizamos o valor da Velocidade Média Máxima (VMM), baseado nos valores dos fluxos sanguíneos nas análises de velocidades das artérias cerebrais médias (ACM) e/ou artérias carótidas internas distais (ACI). Consideramos VMM <170 cm/s normal.

4.4 CÁLCULO AMOSTRAL

A fórmula de comparação entre a média de dois grupos:

$$n = \frac{Z\alpha^2 \cdot 2 \cdot dp^2}{d^2}$$

Onde:

n = número de indivíduos (amostra) por grupo

Z α = Valor crítico que corresponde ao grau de confiança de 95% de confiança (1,96)

dp = desvio padrão

d = diferença entre indivíduos com AF tratados com HU e não tratados com HU (NHU)

O cálculo amostral utilizando as seguintes variáveis hematológicas encontradas no trabalho de Alagbe e colaboradores (2018): leucócitos globais (LG), neutrófilos (Neu) monócitos (Mon) e plaquetas (Pla). Essas variáveis foram escolhidas pelo fato de serem marcadores inflamatórios/trombóticos. Como os valores eram diferentes, realizamos a média encontrada com cada uma das variáveis e o valor de 22 indivíduos por grupo foi encontrado (Tabela 1).

Tabela 1- Valores de média e desvio padrão de variáveis hematológicas de indivíduos em terapia e sem terapia de HU; diferença encontrada entre as médias; número de indivíduos encontrados a partir do cálculo amostral; acréscimo de 10% no valor do n; valor final

Variável	NHU*	Dp*	HU*	DP*	Diferença	n	+10%	Final por grupo
LG	10,7	3,8	8,7	2,8	2	15,05907	16,56	17
Neut	5,9	2,7	4,5	2,3	1,4	20,7368	22,81	23
Mon	1,1	0,6	0,9	0,4	0,2	30,7328	33,81	34
Pla	431,2	168,2	335,2	120	96	12,005	13,21	14
							Média	22

Nota: *Valores de média e dp retirados do trabalho de Alagbe *et al.* (2018).

LG: Leucometria global; Neu: segmentados neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

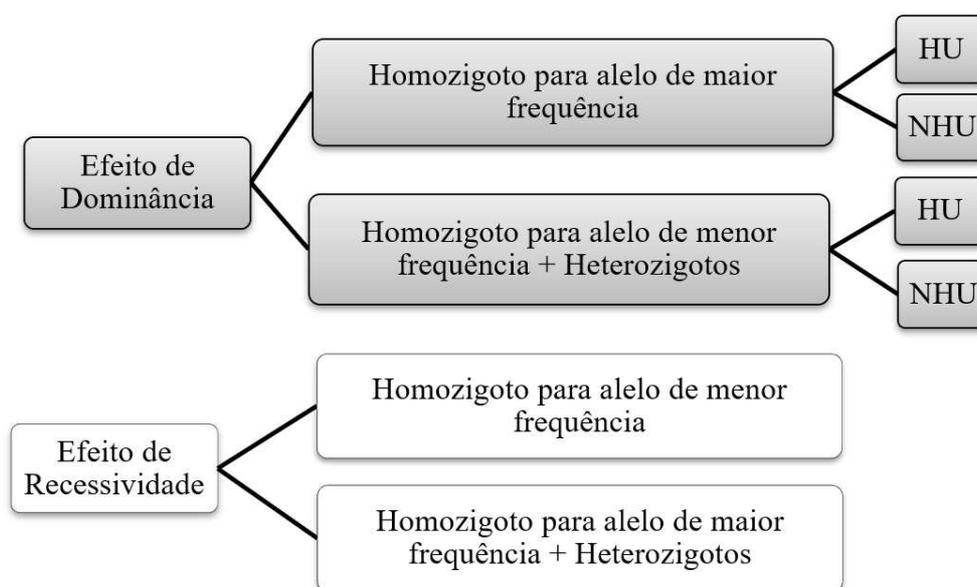
Para caracterização da população estudada foram realizadas médias, desvios padrão, medianas, mínimo e máximo das idades, quantificação por sexo e terapia de HU. Para descrição dos perfis hematológico e bioquímico dos participantes do estudo foram calculadas as médias e desvios padrão das variáveis analisadas.

Para algumas análises de associação que objetivaram verificar a influência da terapêutica da HU sob as variáveis hematológicas e bioquímicas, os indivíduos foram agrupados em dois grupos principais: grupo que era tratado com HU e grupo que não usava HU (NHU) e ainda foram sub-agrupados em: maiores do que 144 meses (≥ 12 anos) e menores do que 144 meses (< 12 anos).

Para verificar se a população se encontrava em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) para os polimorfismos avaliados foi utilizada a calculadora on-line disponível <https://gene-calc.pl/hardy-weinberg-page> que leva em consideração os números de indivíduos por genótipo e aplica o teste de hipótese χ^2 .

Para verificação do efeito da variante gênica com as variáveis hematológicas e bioquímicas aplicaram-se os modelos de efeito genético de dominância, e de recessividade agrupando os participantes de genótipo heterozigoto com os homozigotos para o alelo de menor frequência (modelo de dominância) ou com homozigotos para o alelo de maior frequência (modelo de recessividade). Os grupos estão ilustrados na figura 16.

Figura 16 - Fluxograma dos grupos de estudo para avaliação dos efeitos genéticos de dominância e recessividade dos polimorfismos dos genes analisados



Nota: HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia

Para verificação do efeito de alfa-tal com as variáveis hematológicas e bioquímicas e o efeito da variante rs11865131 no gene *NPRL3* no modelo de dominância, foram criados os seguintes grupos:

1. Grupo de participantes que tinham alfa-tal - analisados nos modelos de dominância ou recessividade para o genótipo da variante rs11865131 no gene *NPRL3*, conforme explicado no item anterior;

2. Grupo de participantes sem alfa-tal - analisados nos modelos de dominância ou recessividade para o genótipo da variante rs11865131 no gene *NPRL3*, conforme explicado no item anterior;
3. Grupo de participantes que tinham alfa-tal subdivididos em indivíduos em terapia e sem terapia com HU (HU e NHU, respectivamente) - cada subgrupo foi analisado nos modelos de dominância ou recessividade para o genótipo da variante rs11865131 no gene *NPRL3*, conforme explicado no item anterior.

A figura 17 ilustra os grupos e subgrupos analisados. Devido ao baixo número de participantes, não foi possível realizar análises dos indivíduos em terapia e sem terapia com HU, HU e NHU, respectivamente, levando em consideração a faixa etária.

Figura 17 - Fluxograma dos grupos e subgrupos de estudo para avaliar a interação da herança de alfa-tal e presença do polimorfismo rs11865131



Nota: HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiuréia

4.5.1 Programas Estatísticos

As informações contidas no banco de dados foram analisadas utilizando os programas Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 22.0 (Statistical Product and Service Solutions – SPSS®, Chicago) e JASP® Team (2024), versão 0.18.3 (JASP®, Amsterdam, The Netherlands). Dados descritivos foram apresentados utilizando frequências, médias, desvios padrão, medianas, mínimo e máximo.

4.5.1.1 Testes de normalidade

A distribuição normal ou não normal dos dados contínuos foi verificada antes de cada análise de associação e correlação, utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov quando o número de indivíduos ou dados (n) era maior do que 30 e Shapiro-Wilk quando este número era menor do que 30.

4.5.1.2 Testes de associação

A verificação da associação de variáveis contínuas com distribuição normal foi realizada utilizando-se o teste T de Student quando se comparava dois grupos ou ANOVA, quando se comparava três grupos. Para as variáveis contínuas com distribuição não normal, analisou-se utilizando o teste de U de Mann-Whitney quando se comparava dois grupos ou Kruskal-Wallis quando se comparava três grupos. A significância estatística foi estabelecida em p valor menor que 0,05 ($p < 0,05$).

4.5.1.3 Magnitude de Efeito

As análises de magnitude de efeito foram realizadas após verificação dos resultados de associação significativas para os biomarcadores genéticos, nos modelos de dominância e recessividade. Foram considerados os seguintes valores: $d < 0,2$ sem efeito; $d \geq 0,2$ e $< 0,5$ efeito pequeno; $d \geq 0,5$ e $< 0,8$ efeito moderado; $d \geq 0,8$ efeito elevado.

4.5.1.4 Correlações Parciais

Foi aplicado teste de correlação parcial controlando efeito da HU entre as variáveis laboratoriais e os polimorfismos em modelo de dominância.

As correlações foram consideradas quando o $p < 0,05$ e classificadas como: muito forte (1 a 0,8; -1 a - 0,8), forte (0,8 a 0,6; -0,8 a - 0,6), moderada (0,6 a 0,4; -0,6 a - 0,4), fraca (0,4 a 0,2; - 0,4 a - 0,2) e muito fraca (0,2 a 0; - 0,2 a 0), além de positiva (+) ou negativa (-) de acordo com o sinal que apresentaram.

4.5.1.5 Análises de regressão

As análises multivariadas foram realizadas após a verificação dos resultados das análises significativas de associação para os biomarcadores genéticos, no modelo de dominância e recessividade e teste de correlações parcial controlando efeito da HU entre as variáveis laboratoriais e os biomarcadores genéticos em modelo de dominância. Primeiramente, realizou-se análise de regressão logística binária, utilizando o método Enter, para verificar se a variável analisada contribui para o desfecho. Em seguida, utilizando os métodos Enter e Forward realizou-se a regressão logística binária múltipla, que foi escolhida pelo fato de algumas variáveis não apresentarem distribuição normal. Algumas variáveis independentes (como idade, sexo e terapia com HU) foram inseridas no modelo com o propósito de ajustá-lo para as variáveis de confusão.

As variáveis dependentes (desfecho), quando quantitativas, foram transformadas em categóricas utilizando-se os valores de referência (VR). Quando o VR era uma faixa ou diferente de acordo com idade ou sexo, utilizou-se o valor mínimo ou máximo, de acordo com a especificidade de cada variável. Os valores de referências adotados para análise de regressão logística estão descritos na tabela 2.

As análises de regressão foram consideradas significativas quando o valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão era menor que 0,05 ($p < 0,05$); o valor de p da variável independente analisada no modelo era menor que 0,05 ($p < 0,05$); quando os dois valores (mínimo e máximo) do intervalo de confiança (IC - Mín-Máx) encontravam-se entre 0 e 0,99 ou 1 e infinito (∞). A razão de chances (OR - *odds ratio*) foi interpretada da seguinte maneira: se $OR=1$, ter ou não ter o fator de risco (variável independente: terapia HU, presença de algum polimorfismo genético e/ou alfa-tal, sexo feminino, idade) não influencia na ocorrência do desfecho (variável dependente, tabela 2). Por outro lado, se $OR > 1$, a chance de desenvolver o desfecho é mais provável no grupo dos indivíduos que têm o fator de risco do que entre aqueles que não o têm. Entretanto, se $OR < 1$, sugere-

se concluir pelo inverso do valor estimado. O valor da estimativa representa a magnitude do efeito da variável independente sobre a variável dependente, ajudando a entender o impacto dessa variável no resultado estudado.

Tabela 2 - Valores adotados nas análises de regressão baseados em valores de referência

Variável dependente	Valores adotados nas análises de regressão
Hemoglobina	$\leq 11\text{g/dL}$
Hematócrito	$\leq 35\%$
Volume Corpuscular Médio	$< 80\text{ fL}$
Hemoglobina Corpuscular Média	$< 26,5\text{ pg}$
Monócitos	$\geq 800/\text{mm}^3$
Plaquetas	$\geq 390.000,00/\text{mm}^3$
Hemoglobina Fetal	$\geq 10\%$
Reticulócitos	$\geq 1,5\%$
Apolipoproteína B	$\geq 90\text{ mg/dL}$
Apolipoproteína A1	$<115\text{ mg/dL}$
Bilirrubina Total	$\geq 1,2\text{ mg/dL}$
Bilirrubina Indireta	$\geq 0,9\text{ mg/dL}$
Lactato desidrogenase	$\geq 610\text{ U/L}$

Nota: \geq maior ou igual; \leq menor ou igual.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

4.6 FINANCIAMENTO

A aquisição de materiais consumíveis de laboratório e o pagamento de serviços para alguns exames bioquímicos foram feitos com recursos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). Os equipamentos utilizados na pesquisa foram adquiridos com recursos do projeto destinado ao Edital CT-INFRA/2013 da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da FAPEMIG (Processo CDS - APQ-03522-13 e APQ 0506-22 e CEX APQ 02506/22) e recursos da UFJF. A UFJF através do seu programa de incentivo a qualificação de servidores (PROQUALI) concedeu bolsa para a doutoranda, que também é servidora da instituição.

5. RESULTADOS

Partimos de um banco de dados/biorrepositório com 186 indivíduos que haviam aceitado participar dos estudos, 67 não possuíam AF, mas outro genótipo de DF, 9 apresentaram outros critérios de exclusão (gestação, deficiência física, uso de medicamento, deficiência intelectual acentuada e óbito), permanecendo, portanto, 110 indivíduos com AF (terapia de transfusão: 9). Os indivíduos estavam em acompanhamento pelo Hemocentro Regional de Governador Valadares (HRGV), nascidos entre 01/01/1998 e 31/12/2014, compreendendo 53,6% (59) do sexo masculino (tabela 3). A média geral de idade foi de 146,20 meses (dp: 47,89), mediana 144,50 meses, mínimo de 49,00 e máximo de 242,00 meses.

O perfil laboratorial dos participantes com AF, o número de indivíduos avaliados, a média, o desvio padrão, a mediana, o mínimo e o máximo, além das características demográficas, se encontram na tabela 3.

Tabela 3 - Características demográficas e laboratoriais dos participantes com anemia falciforme

Parâmetros	n	Média	dp	Mediana	Mínimo - máximo (IC 95%)
Sexo masculino	59				
Idade (meses)	110	146,20	47,89	144,50	49,00-242,00
Hb (g/dL)	110	8,28	1,36	8,30	5,50-13,50
Ht (%)	110	24,91	4,07	24,55	15,10-39,60
HCM (pg)	110	31,96	7,02	31,10	22,00-42,40
VCM (fL)	110	95,18	10,95	94,00	71,00-125,00
HbF (%)	93	12,94	9,74	10,50	1,80-74,70
LG (/mm ³)	109	11.189,31	3.422,13	11.100,00	5.100,00-19.700,00
Ret (%)	108	5,05	3,35	4,50	0,30-18,20
Neu (/mm ³)	107	6.069,24	2.760,15	5.565,00	1125,00-12.087,00
Mon (/mm ³)	109	291,22	206,69	222,00	66,00-1.272,00
Pla (/mm ³)	109	497.522,94	136.858,65	484.000,00	160.000,00-895.000,00
Fe (mcg/dL)	96	89,68	43,69	82,35	22,00-238,00
Ferr (µg/L)	97	241,90	332,75	130,00	4,00-1.950,00
APOA1 (mg/dL)	73	104,78	12,52	104,00	81,00-143,00
APOB (mg/dL)	73	64,64	17,61	62,00	28,00-108,00
CT (mg/dL)	73	125,60	21,39	117,00	92,00-192,00
HDL (mg/dL)	73	38,49	6,90	36,00	19,00-63,00
LDL (mg/dL)	73	69,40	20,24	63,60	35,40-131,4
NHDL (mg/dL)	73	87,12	21,80	80,00	50,00-157,00
TG (mg/dL)	73	88,68	39,85	79,00	35,00-285,00
BT (mg/dL)	72	2,54	1,47	2,40	0,53-7,28

BD (mg/dL)	72	0,55	0,19	0,52	0,080-1,08
BI (mg/dL)	72	1,99	1,37	1,77	0,31-6,64
LDH (U/L)	70	551,74	189,27	513,00	205,00-1.128,00

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME

O DTC foi realizado em 77,27% (n= 85) dos indivíduos, sendo que apenas dois foram classificados como tendo risco alto baseado no maior valor da velocidade do fluxo sanguíneo cerebral e uso das medidas das artérias cerebrais médias (ACM) e artérias carótidas internas distais (ACI). A velocidade média máxima (VMM) foi de $125,87 \pm 28,05$ cm/s. Seis indivíduos apresentaram resultado de $VMM \geq 170$ cm/s (Tabela 4; Figura 18).

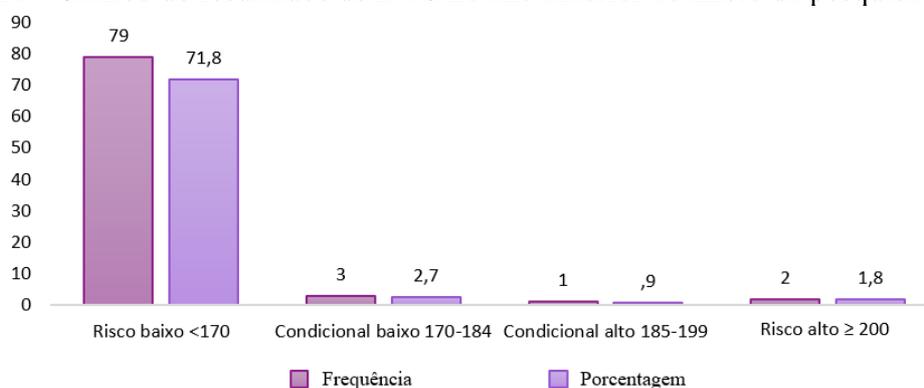
Tabela 4 – Dados dos indivíduos que realizaram o Doppler Transcraniano (DTC) no ano anterior ao início da pesquisa

n	VMM (dp)	DTC último ano		
		≥ 170	<170	Mínimo-Máximo
85	125,87 (28,05)	6 (7,1%)	79 (92,9%)	78,5-233,00

Nota: DTC: Doppler Transcraniano; n: número de indivíduos; VMM: velocidade média máxima; <: menor; \geq : maior ou igual; %: porcentagem.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 18 - Gráfico de resultados de DTC no ano anterior ao início da pesquisa



Nota: DTC: Doppler Transcraniano; <: menor; \geq : maior ou igual.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

A crise álgica foi registrada em 48,1% (51/106) dos participantes e 24,32% (18/74) também passaram por alguma internação no ano anterior ao início do estudo. Ao menos uma transfusão no ano anterior ao início da pesquisa foi realizada por 31,65% (25/79) dos indivíduos e destes, 11,4% (9/79) estavam em regime de transfusão (Tabela 5 e Figura 19).

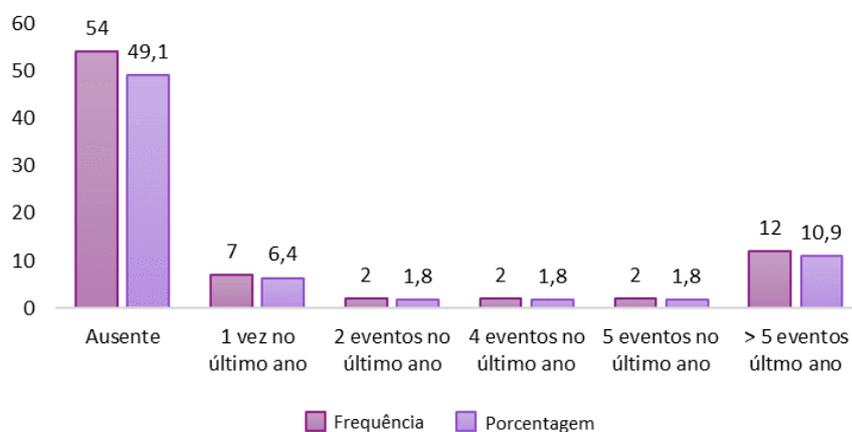
Tabela 5 – Eventos clínicos da população avaliados no ano anterior ao início do estudo

n	Sim	Não	
106	51 (48,1%)	55 (51,9%)	Crise álgica
74	18 (24,3%)	56 (75,7%)	Internação
79	25 (31,6%)	54 (68,4%)	Transfusão
			Regime transfusão
			9 (11,4%)

Nota: n: número de indivíduos; %: porcentagem.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 19 - Distribuição das transfusões no ano anterior à pesquisa pelos participantes do estudo



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.2 INFLUÊNCIA DA TERAPÊUTICA COM HIDROXIUREIA NOS PERFIS LABORATORIAIS DOS INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME

A dose média de HU utilizada pelos 44 indivíduos que possuíam informações de dose da medicação no prontuário médico, foi de $622,01 \pm 257,37$ mg (18,39 mg/kg/dia). Dos 44 indivíduos que tinham informações de início de terapia com HU, 75% faziam uso

do medicamento há mais de dois anos; 13,64% entre um e dois anos e 11,76% há menos de um ano (Tabela 6).

Tabela 6 – Períodos de tratamento e doses de HU nos participantes do estudo

Tempo de terapia HU	n (%)	Dose mg/kg/dia média (dp)	Dose mg média (dp)
<1 Ano	5 (11,36)	12,14 (2,01)	342,84 (207,60)
1-2 Anos	6 (13,63)	19,88 (3,94)	560,65 (196,53)
>2 Anos	33 (75)	19,06 (4,99)	675,47 (248,51)
Todos	44 (100)	18,39 (5,09)	622,01 (257,37)

Nota: HU: hidroxiureia; n: número de indivíduos; %: porcentagem; dp: desvio padrão; mg/kg/dia: miligrama por quilo por dia; mg: miligrama; %: porcentagem; <: menor; >: maior.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Para verificar o efeito da terapia de HU em relação aos dados laboratoriais, foi realizado o teste U de Mann-whitney para os dados que apresentaram distribuição não normal e teste T de Student para os de distribuição normal. Também foi feito o cálculo de magnitude de efeito para aqueles dados que mostraram diferença significativa nos testes anteriores. O grupo HU apresentou maiores valores de média de VCM e APOB (com magnitude de efeito elevada), HbF, APOA1, CT, LDL e NHDL (com magnitude de efeito moderada) e Hb, HCM e HDL (com magnitude de efeito pequena); menores valores de média de LG, BT, BD, BI e LDH (com magnitude de efeito elevada), neutrófilos e monócitos (com magnitude de efeito moderada) (Tabela 7). As análises por faixas etárias, utilizando 144 meses (menores e maiores de 12 anos) como critério avaliativo encontram-se no Apêndice A. Em todas as faixas etárias a HU mostrou melhorar os parâmetros hematológicos e bioquímicos, inclusive reduzindo a hipocolesterolemia.

Tabela 7 - Análises descritivas de associação e magnitude de efeito entre as variáveis hematológicas, bioquímicas e clínica em relação à terapia de HU nos participantes do estudo

Variáveis	NHU		HU		p	Efeito d
	N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hematológicas						
Hb (g/dL)	50	7,95 (1,33)	60	8,57 (1,32)	0,015¹	-0,468
Ht (%)	50	23,92 (3,88)	60	26,01 (3,92)	0,002¹	-0,536
HCM (pg)	50	30,77 (9,35)	60	32,96 (4,04)	<0,001²	-0,304
VCM (fL)	50	89,41 (8,15)	60	99,99 (10,7)	<0,001¹	-1,112
HbF (%)	36	10,1 (6,44)	57	14,74 (11,03)	0,013²	-0,514
LG (/mm ³)	49	12.806,71 (3.420,63)	60	9.868,43 (2.823,28)	<0,001¹	0,937
Neu (/mm ³)	47	6.979,36 (2.856,79)	60	5.356,32 (2.479,44)	0,002¹	0,607

Mon (/mm ³)	49	342,80 (252,06)	60	249,10 (149,99)	0,018¹	0,452
Pla /mm ³	49	501857,14 (109851,23)	60	493983,33 (156333,47)	0,767 ¹	
Ret (%)	49	5,74 (3,61)	59	4,70 (3,11)	0,252 ²	
Fe (mcg/dL)	42	85,980 (44,74)	54	92,55 (43,06)	0,467 ¹	
Fer µg/L	42	225,43 (389,86)	55	254,48 (284,73)	0,672 ¹	
Lipídicas						
APOA1 (mg/dL)	34	101,18 (11,79)	39	107,92 (12,42)	0,021¹	-0,557
APOB (mg/dL)	34	58,59 (14,58)	39	69,92 (18,49)	0,005¹	-0,950
CT (mg/dL)	34	117,79 (17,96)	39	132,41 (22,01)	0,002²	-0,728
LDL (mg/dL)	34	62,06 (17,93)	39	75,79 (20,17)	0,002²	-0,719
HDL (mg/dL)	34	36,85 (7,64)	39	39,92 (5,93)	0,008²	-0,449
NHDL (mg/dL)	34	81,00 (18,16)	39	92,46 (23,48)	0,033²	-0,546
TG (mg/dL)	34	94,65 (48,53)	39	83,49 (30,08)	0,507 ²	
Inflamação / hemólise						
BT (mg/dL)	35	3,35 (1,55)	37	1,77 (0,87)	<0,001²	1,257
BD (mg/dL)	35	0,64 (0,17)	37	0,46 (0,16)	<0,001¹	1,090
BI (mg/dL)	35	2,72 (1,51)	37	1,31 (0,77)	<0,001²	1,176
LDH (U/L)	33	624,52 (189,94)	37	486,84 (165,54)	0,002²	1,034
VMM (cm/s)	23	128,36 (20,51)	35	135,08 (32,11)	0,377 ¹	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

1: Teste T de Student; 2: Teste U de Mann-Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.3 GENOTIPAGENS DOS SNPs DE PPARs, *NPRL3* E DE ALFA-TALASSEMIA

A discriminação alélica para genotipagem de cinco polimorfismos dos genes *PPARA*, *PPARG*, *PPARD* e *NPRL3* foram conduzidas em todos os participantes do estudo e a figura 20 ilustra graficamente uma das análises de genotipagens por qPCR.

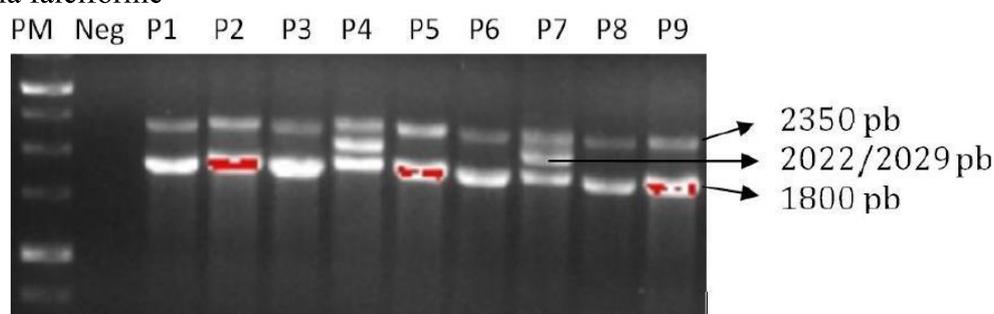
A distribuição de todos os genótipos foi consistente com o equilíbrio de Hardy Weinberg (EHW). As estimativas das frequências alélicas e genotípicas das variantes estudadas encontram-se descritas na tabela 8. A frequência do alelo de menor frequência (G) do SNP rs709158 de *PPARG* foi mais próxima à inferida no projeto 1000 Genome 30x e similar (G=0.1997) na população latino-americana 2 (constituída de indivíduos com ascendência predominantemente europeia e americana nativa). A frequência do alelo de

SNP: polimorfismo de único nucleotídeo; rs: referência de SNP; EHW: equilíbrio de Hardy-Weinberg; %: porcentagem.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

As genotipagens de alfa-tal para as variantes $\alpha^{-3,7\text{Kb}}$ e $\alpha^{-4,2\text{Kb}}$ dos genes *HBA* foram realizadas em todos os indivíduos participantes do estudo. A figura 21 mostra a foto de um gel de agarose após eletroforese e revelação dos fragmentos amplificados pelo teste de gapPCR para alfa-tal. Do total de participantes do estudo, 19% portavam uma ou duas deleções para a variante $\alpha^{-3,7\text{Kb}}$. Os valores das frequências de alfa-tal em cada grupo estão descritos na tabela 9.

Figura 21 - Fotografia do gel de agarose da genotipagem de alfa-tal em indivíduos com anemia falciforme



Nota: Fotografia do gel de agarose a 1% visualizado sob luz ultravioleta após corrida eletroforética dos amplicons da PCR de genotipagem de alfa-tal. As canaletas e as bandas do gel indicam: PM: padrão de peso molecular; Neg: controle negativo; P: paciente; P1, P2, P3, P5, P6, P8 e P9: sem deleção do gene *HBA* (genótipo $\alpha\alpha/\alpha\alpha$); P4 e P7: uma deleção do gene *HBA* (genótipo $-\alpha/\alpha\alpha$). O fragmento de 2350 pb corresponde ao gene *LIS*, controle positivo interno da reação; O fragmento de 2022/2029 pb do gene *HBA* com deleção de 3.7 Kb; o fragmento de 1800 pb indica o gene *HBA* (alfa 2) sem deleção.

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Tabela 9 - Distribuição de genótipos de alfa-tal (alelo $\alpha^{-3,7\text{Kb}}$) na população estudada

	Co-herança de Alfa-tal			Total	Frequência de alfa-tal
	Sem alfa-tal $\alpha\alpha/\alpha\alpha$	Uma deleção $\alpha^{-3,7\text{kb}}/\alpha\alpha$	Duas deleções $-\alpha^{-3,7\text{kb}}/-\alpha^{-3,7\text{kb}}$		
Número de indivíduos (porcentagem)	89 (80,91%)	20 (18,18%)	01 (0,91%)	110 (100%)	0,19

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Além disso, verificamos a distribuição dos genótipos de *NPRL3* rs11865131 levando em consideração a alfa-tal (alelo $\alpha^{-3,7\text{Kb}}$). Os indivíduos sem co-herança de alfa-tal possuem uma frequência superior do alelo menor do A-rs11865131 de *NPRL3* em relação aos indivíduos sem a alfa-tal, entretanto, sem diferença significativa na distribuição dos alelos ($\chi^2 = 2,675$; $P[\chi^2] = 0,262$) (Tabela 10).

Tabela 10 - Distribuição de genótipos de *NPRL3* rs11865131 levando em consideração alfa-tal (alelo $\alpha^{-3.7 \text{ Kb}}$)

Indivíduos	Genótipos rs11865131			Frequências alélicas rs11865131		EHW p
	AA	AG	GG	A	G	
Sem alfa-tal	9 (10,12%)	40 (44,94%)	40 (44,94%)	0,3258	0,6742	0,994
Com alfa-tal	0 (0,0%)	9 (42,86%)	12 (57,14%)	0,2143	0,7857	0,123

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.4 ANÁLISES DOS SNPs DE *PPARs* E *NPRL3* E DE ALFA-TALASSEMIA COM DADOS CLÍNICOS

Neste tópico serão apresentados os resultados dos testes estatísticos para as análises de associação, magnitude de efeito, correlação e regressão realizadas com parâmetros hematológicos, bioquímicos e clínicos nos participantes com AF da população do estudo, controlando terapia de HU e outros parâmetros.

5.4.1 Análises de Regressão Logística Binária ou Binária Múltipla das variantes gênicas com Variáveis Clínicas

Foram realizadas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença dos polimorfismos de *PPARA* rs4253747, *PPARG* rs10865710, *PPARG* rs709158, *PPARD* rs2016520 e *NPRL3* rs11865131 em modelo de dominância, ou a co-herança de alfa-tal em predizerem a chance de crise algica. Não foram encontrados modelos significativos para esses parâmetros (Tabela 11).

Tabela 11 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação a crise algica, no modelo genético de dominância para os polimorfismos de *PPARA* rs4253747, *PPARG* rs10865710 e rs709158, *PPARD* rs2016520 e *NPRL3* rs11865131, ou a co-herança de alfa-tal, ajustados para terapia com HU, sexo e idade

Variável	p[χ^2] Modelo	OR não ajustada	IC Mín-Máx		p
Desfecho: presença de Crise algica					
Regressão logística binária					
Idade (meses)	0,860	0,999	0,992	1,007	0,860
Sexo (feminino)	0,539	0,787	0,366	1,692	0,539
Uso HU (sim)	0,810	1,098	0,51	2,366	0,810

Alfa-tal	0,590	0,768	0,293	2,012	0,591
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,934	1,033	0,474	2,252	0,934
Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,994	0,997	0,465	2,137	0,994
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,494	1,330	0,587	3,011	0,495
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,712	0,856	0,375	1,954	0,713
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,449	0,744	0,346	1,600	0,45
Variável independente: Alfa-tal		Regressão logística binária múltipla			
Idade (meses)	0,967	0,999	0,991	1,007	0,79
Sexo (feminino)	0,967	1,422	0,441	4,587	0,556
Uso HU (sim)	0,967	1,411	0,367	5,421	0,616
Alfa-tal	0,967	1,783	0,24	13,240	0,572
Uso HU (sim) * Sexo (feminino)	0,967	0,512	0,089	2,943	0,453
Uso HU (sim) * Alfa-tal	0,967	0,468	0,032	6,761	0,577
Sexo (feminino) * Alfa-tal	0,967	0,19	0,012	3,050	0,241
Uso HU (sim) * Sexo (feminino) * Alfa-tal	0,967	3,691	0,058	236,141	0,538
Variável independente: <i>PPARA</i> rs4253747		Regressão logística binária múltipla			
Uso HU (sim)	0,164	2,864	0,416	19,706	0,285
Sexo feminino)	0,164	0,204	0,029	1,429	0,11
Idade (meses)	0,164	1,000	0,992	1,009	0,916
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,164	0,441	0,087	2,224	0,321
Uso HU (sim)* Sexo (feminino)	0,164	0,453	0,027	7,683	0,584
Uso HU (sim)* Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,164	0,388	0,036	4,217	0,437
Sexo (feminino)* Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,164	12,508	1,019	153,491	0,048
Uso HU (sim)* Sexo (feminino)* Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,164	1,616	0,048	54,120	0,789
Variável independente: <i>PPARG</i> rs10865710		Regressão logística binária múltipla			
Uso HU (sim)	0,94	1,661	0,386	7,137	0,495
Sexo (feminino)	0,94	0,499	0,088	2,838	0,433
Idade (meses)	0,94	1,000	0,992	1,007	0,912
Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,94	0,837	0,172	4,088	0,826
Uso HU (sim) * Sexo (feminino)	0,94	0,805	0,084	7,742	0,851
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,94	0,562	0,067	4,706	0,595

Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,94	2,813	0,263	30,134	0,393
Uso HU (sim) * Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,94	1,132	0,048	26,859	0,939
<i>PPARG</i> rs709158		Regressão logística binária múltipla			
Uso HU (sim)	0,98	1,430	0,386	5,302	0,593
Sexo (feminino)	0,98	1,110	0,277	4,446	0,883
Idade (meses)	0,98	1,000	0,991	1,008	0,990
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,98	2,380	0,423	13,392	0,325
Uso HU (sim) * Sexo (feminino)	0,98	0,809	0,125	5,255	0,825
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,98	0,587	0,060	5,762	0,647
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,98	0,542	0,039	7,486	0,648
Uso HU (sim) * Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,98	0,882	0,030	26,087	0,942
<i>Variável independente: PPARD</i> rs2016520		Regressão logística binária múltipla			
Uso HU (sim)	0,995	0,976	0,261	3,644	0,971
Sexo (feminino)	0,995	0,711	0,188	2,691	0,615
idade (meses)	0,995	0,999	0,991	1,007	0,858
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,995	0,532	0,095	2,970	0,472
Uso HU (sim) * Sexo (feminino)	0,995	1,148	0,182	7,264	0,883
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,995	2,021	0,214	19,070	0,539
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,995	2,391	0,149	38,432	0,538
Uso HU (sim) * Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,995	0,261	0,007	9,200	0,460
<i>Variável independente: NPRL3</i> rs11865131		Regressão logística binária múltipla			
Uso HU (sim)	0,621	1,596	0,345	7,388	0,550
Sexo (feminino)	0,621	2,243	0,452	11,129	0,323
Idade (meses)	0,621	1,000	0,992	1,008	0,907
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,621	2,254	0,453	11,229	0,321
Uso HU (sim) * Sexo (feminino)	0,621	0,784	0,081	7,621	0,834
Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,621	0,559	0,067	4,692	0,592
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,621	0,137	0,013	1,497	0,103

Uso HU (sim) * Sexo (feminino) *					
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,621	1,506	0,061	37,448	0,803

Nota: HU: hidroxiuréia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Da mesma forma, não foram encontrados modelos significativos quando das análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença dos polimorfismos de *PPARA* rs4253747, *PPARG* rs10865710, *PPARG* rs709158, *PPARD* rs2016520 e *NPRL3* rs11865131 em modelo de dominância, ou a co-herança de alfa-tal para predizerem a chance de internação (Tabela 12).

Tabela 12 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação a internação, no modelo genético de dominância para os polimorfismos de *PPARA* rs4253747, *PPARG* rs10865710 e rs709158, *PPARD* rs2016520 e *NPRL3* rs11865131, ou a co-herança de alfa-tal, ajustados para terapia com HU, sexo e idade

Variável	$P[\chi^2]$ Modelo	OR	IC Mín-Máx		p
Desfecho: ocorrência de Internação					
Regressão logística binária					
Idade (meses)	0,852	1,001	0,987	1,016	0,852
Sexo (feminino)	0,692	1,240	0,428	3,592	0,692
Uso HU (sim)	0,053	3,000	0,943	9,545	0,063
Alfa-tal	0,549	0,662	0,165	2,646	0,559
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,556	1,394	0,457	4,252	0,559
Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,588	1,343	0,462	3,903	0,588
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,703	1,250	0,4	3,903	0,701
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,925	1,056	0,341	3,265	0,925
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,169	2,148	0,707	6,527	0,178
Variável independente: Alfa-tal					
Regressão logística binária múltipla					
Idade (meses)	0,637	1,002	0,986	1,018	0,826
Sexo (feminino)	0,637	2,551	0,28	23,210	0,406
Uso HU (sim)	0,637	5,407	0,892	32,787	0,066
Alfa-tal	0,637	$5,290 \times 10^{-7}$	0	∞	0,992
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,637	0,242	0,017	3,393	0,292
Sexo feminino) * Alfa-tal	0,637	$1,206 \times 10^{-6}$	0	∞	0,992
Uso HU (sim) * Alfa-tal	0,637	958,777,071	0	∞	0,992

Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Alfa-tal	0,637	$2,009 \times 10^{-6}$	0	∞	0,992
Variável independente: <i>PPARA</i> rs4253747		Regressão logística binária múltipla			
Sexo (feminino)	0,339	$5,380 \times 10^{-7}$	0	∞	0,993
Uso HU (sim)	0,339	$8,611 \times 10^{-7}$	0	∞	0,993
Idade (meses)	0,339	1,005	0,987	1,022	0,595
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,339	$2,562 \times 10^{-7}$	0	∞	0,993
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,339	$7,434 \times 10^{-9}$	0	∞	0,993
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,339	$1,134 \times 10^{-8}$	0	∞	0,993
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,339	$2,925 \times 10^{-8}$	0	∞	0,993
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,339	$2,151 \times 10^{-8}$	0	∞	0,993
Variável independente: <i>PPARG</i> rs10865710		Regressão logística binária múltipla			
Sexo (feminino)	0,482	$2,549 \times 10^{-7}$	0	∞	0,994
Uso HU (sim)	0,482	7,483	0,669	83,678	0,102
Idade (meses)	0,482	1,002	0,985	1,019	0,81
Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,482	1,303	0,068	24,884	0,86
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,482	$2,126 \times 10^{-6}$	0	∞	0,994
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,482	$1,334 \times 10^{-7}$	0	∞	0,993
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,482	0,54	0,017	17,382	0,728
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,482	$1,406 \times 10^{-7}$	0	∞	0,994
Variável independente: <i>PPARG</i> rs709158		Regressão logística binária múltipla			
Sexo (feminino)	0,227	1,146	0,134	9,774	0,901
Uso HU (sim)	0,227	2,016	0,275	14,760	0,49
Idade (meses)	0,227	1,004	0,987	1,022	0,619
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,227	$1,401 \times 10^{-7}$	0	∞	0,992
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,227	1,472	0,094	22,917	0,783
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,227	$3,308 \times 10^{-7}$	0	∞	0,991
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,227	$3,006 \times 10^{-7}$	0	∞	0,991
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,227	$2,455 \times 10^{-9}$	0	∞	0,989

Variável independente: <i>PPARD</i> rs2016520	Regressão logística binária múltipla				
Sexo (feminino)	0,402	3,982	0,351	45,162	0,265
Uso HU (sim)	0,402	4,827	0,416	56,006	0,208
Idade (meses)	0,402	1,006	0,989	1,022	0,513
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,402	1,960	0,102	37,820	0,656
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,402	0,38	0,019	7,482	0,524
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,402	$9,026 \times 10^{-8}$	0	∞	0,992
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,402	1,438	0,043	48,232	0,839
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,402	$1,289 \times 10^{-6}$	0	∞	0,993
Variável independente: <i>NPRL3</i> rs11865131	Regressão logística binária múltipla				
Sexo (feminino)	0,283	$2,819 \times 10^{-7}$	0	∞	0,993
Uso HU (sim)	0,283	$4,112 \times 10^{-7}$	0	∞	0,993
Idade (meses)	0,283	1,005	0,989	1,021	0,583
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,283	$3,607 \times 10^{-7}$	0	∞	0,993
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,283	$4,490 \times 10^{-8}$	0	∞	0,993
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,283	$3,184 \times 10^{-8}$	0	∞	0,993
Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,283	$6,974 \times 10^{-8}$	0	∞	0,993
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,283	$1,230 \times 10^{-7}$	0	∞	0,993

Nota: HU: hidroxiuréia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Nas análises preliminares com testes de associação encontramos menor VMM com efeito elevado ($p= 0,030$ e $d= 0,848$) para os indivíduos do grupo HU e portadores do alelo de menor frequência de *PPARG* rs709158 (Apêndice B, Tabela 50). Não encontramos diferença nos modelos de recessividade (Apêndice C, Tabela 51). Também foram realizadas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença dos polimorfismos de *PPARA* rs4253747, *PPARG* rs10865710, *PPARG* rs709158, *PPARD* rs2016520 e *NPRL3* rs11865131 (em modelo de dominância), ou a co-herança de alfa-tal em predizer o risco de VMM acima de 170 cm/s. Embora o modelo tenha sido

significativo para o *PPARD* rs2016520 ($P[\chi^2]$ Modelo não ajustado=0,025), a regressão não alcançou significância (OR= $2,704 \times 10^{-8}$; IC: 0- ∞ ; p= 0,993). Os demais modelos não foram significativos (Tabela 13).

Tabela 13 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação a VMM, no modelo genético de dominância para os polimorfismos *PPARA* rs4253747, *PPARG* rs10865710 e rs709158, *PPARD* rs2016520 e *NPRL3* rs11865131, ou a co-herança de alfa-tal, ajustados para terapia com HU, sexo e idade

Variável	$P[\chi^2]$ Modelo	OR	IC Mín-Máx		p
VMM: ≥ 170					
Regressão logística binária					
Idade (meses)	0,772	0,997	0,979	1,016	0,773
Sexo (feminino)	0,261	2,647	0,458	15,304	0,277
Uso HU (sim)	0,201	3,587	0,4	32,149	0,254
Alfa-tal	0,670	0,632	0,069	5,746	0,683
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,696	0,717	0,136	3,779	0,695
Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,929	1,079	0,205	5,675	0,929
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,352	0,385	0,043	3,465	0,395
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,025	$2,704 \times 10^{-8}$	0	∞	0,993
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,377	0,463	0,08	2,677	0,390
Variável independente: Alfa-tal					
Regressão logística binária múltipla					
Idade (meses)	0,249	0,994	0,973	1,015	0,559
Sexo (feminino)	0,249	0,968	0	∞	1,000
Uso HU (sim)	0,249	$4,189 \times 10^{-7}$	0	∞	0,997
Deleção Alfa-tal (com deleção)	0,249	$2,005 \times 10^{-8}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,249	5,262	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Alfa-tal	0,249	$4,806 \times 10^{-9}$	0	∞	0,999
Uso HU (sim) * Alfa-tal	0,249	$1,109 \times 10^{-16}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Alfa- tal	0,249	$4,416 \times 10^{-7}$	0	∞	0,999
Variável independente: <i>PPARA</i> rs4253747					
Regressão logística binária múltipla					
Sexo (feminino)	0,279	$9,331 \times 10^{-9}$	0	∞	0,998
Uso HU (sim)	0,279	1,003	0,053	18,997	0,998
Idade (meses)	0,279	0,998	0,977	1,019	0,85
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,279	$9,807 \times 10^{-9}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,279	$1,025 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998

Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,279	$1,070 \times 10^{-8}$	0	∞	0,999
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,279	0,986	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,279	2,255	0	∞	1,000
Variável independente: <i>PPARG</i> rs10865710	Regressão logística binária múltipla				
Sexo (feminino)	0,265	$1,043 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998
Uso HU (sim)	0,265	0,783	0,043	14,241	0,868
Idade (meses)	0,265	0,992	0,97	1,015	0,502
Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,265	$1,369 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,265	$1,126 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,265	$9,532 \times 10^{-7}$	0	∞	0,999
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,265	1,211	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,265	3,285	0	∞	1,000
Variável independente: <i>PPARG</i> rs709158	Regressão logística binária múltipla				
Sexo (feminino)	0,154	0,95	0	∞	1,000
Uso HU (sim)	0,154	$6,480 \times 10^{-7}$	0	∞	0,997
Idade (meses)	0,154	0,996	0,976	1,016	0,668
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,154	$1,367 \times 10^{-8}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,154	4,282	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,154	$8,269 \times 10^{-9}$	0	∞	0,999
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,154	$1,007 \times 10^{-16}$	0	∞	0,996
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,154	$3,728 \times 10^{-7}$	0	∞	0,999
Variável independente: <i>PPARD</i> rs2016520	Regressão logística binária múltipla				
Sexo (feminino)	0,196	$1,280 \times 10^{-8}$	0	∞	0,997
Uso HU (sim)	0,196	0,712	0,04	12,785	0,818
Idade (meses)	0,196	0,997	0,977	1,018	0,775
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,196	$1,317 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,196	$4,146 \times 10^{-8}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,196	$7,886 \times 10^{-7}$	0	∞	0,999

Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,196	1,460	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,196	$2,394 \times 10^{-9}$	0	∞	0,999
Variável independente: <i>NPRL3</i> rs11865131	Regressão logística binária múltipla				
Sexo (feminino)	0,337	$8,166 \times 10^{-9}$	0	∞	0,997
Uso HU (sim)	0,337	0,622	0,033	11,718	0,751
Idade (meses)	0,337	0,992	0,969	1,015	0,487
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,337	$8,593 \times 10^{-9}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,337	$4,345 \times 10^{-8}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,337	$1,384 \times 10^{-8}$	0	∞	0,999
Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,337	1,660	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,337	0,307	0	∞	1,000

Nota: HU: hidroxiuréia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Não foram encontrados modelos significativos nas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença dos polimorfismos de *PPARA* rs4253747, *PPARG* rs10865710, *PPARG* rs709158, *PPARD* rs2016520 e *NPRL3* rs11865131 em modelo de dominância, ou a co-herança de alfa-tal para predizerem a chance de ocorrência de transfusão (Tabela 14).

Tabela 14 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação a transfusão, no modelo genético de dominância para os polimorfismos de *PPARA* rs4253747, *PPARG* rs10865710 e rs709158, *PPARD* rs2016520 e *NPRL3* rs11865131, ou a co-herança de alfa-tal, ajustados para terapia com HU, sexo e idade

Variável	$p[\chi^2]$ Modelo	OR	IC Mín-Máx		p
Ocorrência de Transfusão					
Regressão logística binária					
Idade (meses)	0,072	0,992	0,983	1,001	0,079
Sexo(feminino)	0,768	1,154	0,446	2,985	0,768
Uso HU (sim)	0,309	1,651	0,622	4,379	0,314
Alfa-tal	0,057	0,183	0,022	1,519	0,116
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,275	0,587	0,226	1,529	0,276

Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,869	1,083	0,419	2,798	0,869
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,244	0,537	0,184	1,567	0,255
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,702	1,224	0,437	3,427	0,701
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,869	0,923	0,357	2,384	0,869
Variável independente: Alfa-tal	Regressão logística binária múltipla				
Idade (meses)	0,068	0,990	0,980	0,999	0,037
Sexo (feminino)	0,068	0,450	0,083	2,442	0,355
Uso HU (sim)	0,068	0,739	0,179	3,053	0,676
Alfa-tal	0,068	$2,525 \times 10^{-8}$	0	∞	0,995
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,068	3,909	0,445	34,298	0,219
Sexo (feminino) * Alfa-tal	0,068	2,191	0	∞	1,000
Uso HU (sim) * Alfa-tal	0,068	1,407	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Alfa-tal	0,068	$1,133 \times 10^{+7}$	0	∞	0,997
Variável independente: <i>PPARA</i> rs4253747	Regressão logística binária múltipla				
Sexo (feminino)	0,225	0,121	0,01	1,454	0,096
Uso HU (sim)	0,225	0,444	0,066	2,979	0,403
Idade (meses)	0,225	0,992	0,982	1,002	0,106
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,225	0,181	0,015	2,160	0,177
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,225	28,413	1,061	761,164	0,046
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,225	17,897	0,463	691,946	0,122
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,225	4,504	0,209	97,195	0,337
Sexo(feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,225	0,031	0	2,989	0,136
Variável independente: <i>PPARG</i> rs10865710	Regressão logística binária múltipla				
Sexo(feminino)	0,125	$2,524 \times 10^{-8}$	0	∞	0,990
Uso HU (sim)	0,125	0,482	0,077	2,997	0,434
Idade (meses)	0,125	0,991	0,981	1,001	0,068
Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,125	0,366	0,044	3,008	0,350
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,125	$6,330 \times 10^{+7}$	0	∞	0,990
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,125	$6,423 \times 10^{+7}$	0	∞	0,990
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,125	2,226	0,139	35,715	0,572
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,125	$3,562 \times 10^{-8}$	0	∞	0,990

Variável independente: <i>PPARG</i> rs709158	Regressão logística binária múltipla				
Sexo (feminino)	0,272	0,24	0,031	1,880	0,174
Uso HU (sim)	0,272	0,791	0,149	4,195	0,783
Idade (meses)	0,272	0,99	0,98	1,001	0,074
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,272	0,527	0,062	4,514	0,559
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,272	8,972	0,716	112,449	0,089
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,272	5,678	0,139	231,247	0,359
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,272	0,678	0,038	11,972	0,791
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,272	0,146	0,001	15,158	0,417
Variável independente: <i>PPARD</i> rs2016520	Regressão logística binária múltipla				
Sexo (feminino)	0,391	0,348	0,049	2,447	0,289
Uso HU (sim)	0,391	0,885	0,169	4,641	0,885
Idade (meses)	0,391	0,992	0,982	1,002	0,100
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,391	1,555	0,178	13,629	0,69
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,391	5,075	0,415	62,105	0,204
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,391	2,695	0,071	102,027	0,593
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,391	0,491	0,027	9,078	0,632
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,391	1,006	0,009	107,040	0,998
Variável independente: <i>NPRL3</i> rs11865131	Regressão logística binária múltipla				
Sexo (feminino)	0,502	0,358	0,046	2,759	0,324
Uso HU (sim)	0,502	0,488	0,075	3,158	0,452
Idade (meses)	0,502	0,992	0,983	1,002	0,102
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,502	0,587	0,073	4,743	0,617
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,502	6,786	0,416	110,813	0,179
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,502	1,429	0,048	42,163	0,836
Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,502	2,291	0,146	35,929	0,555
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,502	0,661	0,009	46,832	0,849

Nota: HU: hidroxiúria; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Foram realizadas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença dos polimorfismos de *PPARA* rs4253747, *PPARG* rs10865710, *PPARG* rs709158, *PPARD* rs2016520 e *NPRL3* rs11865131 em modelo de dominância, ou a co-herança de alfa-tal para prever a chance de estar em regime de transfusão. Foram encontrados modelos significativos não ajustados, quando avaliados terapia com HU ($p[\chi^2]$ modelo não ajustado=0,022) e co-herança de alfa-tal ($p[\chi^2]$ modelo não ajustado=0,09). Porém, os resultados das regressões não foram significativos. Também encontramos modelo ajustado (método Enter) significativo para *PPARA* rs4253747 ($p[\chi^2]$ modelo ajustado= 0,016), mas os resultados da regressão não alcançaram significância. Os demais modelos não foram significativos (Tabela 15). Pelo método Forward, foi encontrado um modelo significativo ($p[\chi^2]$ modelo ajustado = 0,048), entretanto os resultados da regressão não apresentaram significância.

Tabela 15 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação a regime de transfusão, no modelo genético de dominância para os polimorfismos de *PPARA* rs4253747, *PPARG* rs10865710 e rs709158, *PPARD* rs2016520 e *NPRL3* rs11865131, ou a co-herança de alfa-tal, ajustados para terapia com HU, sexo e idade

Variável	P[χ^2] Modelo	OR	IC Mín-Máx		p
Regime de transfusão presente					
Regressão logística binária					
Idade (meses)	0,630	1,003	0,991	1,016	0,631
Sexo (feminino)	0,524	1,573	0,389	6,357	0,525
Uso HU (sim)	0,022	7,556	0,897	63,645	0,063
Alfa-tal	0,090	$5,669 \times 10^{-8}$	0	∞	0,993
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,129	0,333	0,077	1,444	0,142
Dominância <i>PPARG</i> rs10865710 (CG+GG)	0,753	1,250	0,31	5,047	0,754
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,977	1,022	0,234	4,457	0,977
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,621	0,667	0,128	3,480	0,631
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,693	1,324	0,328	5,345	0,694
Variável independente: Alfa-tal					
Regressão logística binária múltipla					
Idade (meses)	0,260	1,003	0,99	1,017	0,625
Sexo (feminino)	0,260	$2,353 \times 10^{+7}$	0	∞	0,995
Uso HU (sim)	0,260	$7,610 \times 10^{+7}$	0	∞	0,995
Alfa-tal	0,260	1,151	0	∞	1,000

Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,260	$5,710 \times 10^{-8}$	0	∞	0,995
Sexo feminino) * Alfa-tal	0,260	$4,310 \times 10^{-8}$	0	∞	0,999
Uso HU (sim) * Alfa-tal	0,260	$1,322 \times 10^{-8}$	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Alfa-tal	0,260	$1,719 \times 10^{-7}$	0	∞	0,999
Variável independente: PPARA rs4253747					
Regressão logística binária múltipla					
Sexo (feminino)	0,016	1,031	0	∞	1,000
Uso HU (sim)	0,016	$2,551 \times 10^{-8}$	0	∞	0,997
Idade (meses)	0,016	1,004	0,988	1,020	0,639
Dominância PPARA rs4253747 (AT+AA)	0,016	0,859	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,016	4,143	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Dominância PPARA rs4253747 (AT+AA)	0,016	$1,014 \times 10^{-8}$	0	∞	0,999
Uso HU (sim) * Dominância PPARA rs4253747 (AT+AA)	0,016	0,517	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância PPARA rs4253747 (AT+AA)	0,016	$2,062 \times 10^{-17}$	0	∞	0,997
Variável independente: PPARG rs10865710					
Regressão logística binária múltipla					
Sexo (feminino)	0,382	1,038	0	∞	1,000
Uso HU (sim)	0,382	$6,238 \times 10^{-7}$	0	∞	0,996
Idade (meses)	0,382	1,005	0,991	1,019	0,469
Dominância PPARG rs10865710 (CG+GG)	0,382	0,996	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,382	1,302	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Dominância PPARG rs10865710 (CG+GG)	0,382	$3,190 \times 10^{-7}$	0	∞	0,998
Uso HU (sim) * Dominância PPARG rs10865710 (CG+GG)	0,382	1,013	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância PPARG rs10865710 (CG+GG)	0,382	$3,621 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998
Variável independente: PPARG rs709158					
Regressão logística binária múltipla					
Sexo (feminino)	0,277	1,070	0	∞	1,000
Uso HU (sim)	0,277	$7,207 \times 10^{-7}$	0	∞	0,996
Idade (meses)	0,277	1,002	0,986	1,019	0,786
Dominância PPARG rs709158 (AG+GG)	0,277	1,049	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,277	1,204	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Dominância PPARG rs709158 (AG+GG)	0,277	$6,283 \times 10^{-7}$	0	∞	0,998
Uso HU (sim) * Dominância PPARG rs709158 (AG+GG)	0,277	0,589	0	∞	1,000

Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,277	$2,124 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998
Variável independente: <i>PPARD</i> rs2016520					
Regressão logística binária múltipla					
Sexo (feminino)	0,348	$2,474 \times 10^{-7}$	0	∞	0,995
Uso HU (sim)	0,348	$1,030 \times 10^{-8}$	0	∞	0,995
Idade (meses)	0,348	1,008	0,994	1,022	0,285
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,348	1,090	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,348	$3,922 \times 10^{-8}$	0	∞	0,995
Sexo (feminino) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,348	$3,051 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998
Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,348	0,271	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,348	$1,021 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998
Variável independente: <i>NPRL3</i> rs11865131					
Regressão logística binária múltipla					
Sexo (feminino)	0,269	$3,324 \times 10^{-7}$	0	∞	0,996
Uso HU (sim)	0,269	$7,757 \times 10^{-7}$	0	∞	0,996
Idade (meses)	0,269	1,006	0,992	1,021	0,373
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,269	0,827	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,269	$1,571 \times 10^{-8}$	0	∞	0,996
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,269	$2,983 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998
Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,269	0,716	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,269	$1,900 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998

Nota: HU: hidroxiúria; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.4.2 Correlação parcial dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e velocidade média máxima do doppler transcraniano com os polimorfismos ajustado para terapia com HU

Quando aplicado o teste de correlação parcial controlando o efeito da terapia de HU (Tabelas 16, 17 e 18), encontramos as seguintes correlações: fraca positiva entre a presença do polimorfismo rs2016520 de *PPARD* e monócitos ($r=0,271$; $p=0,004$); fraca

negativa entre o rs4253747 de *PPARA* e HbF ($r=-0,215$; $p= 0,039$) e fraca negativa entre o rs709158 de *PPARG* e LDH ($r= -0,257$; $p= 0,033$).

Tabela 16 - Correlação dos parâmetros hematológicos dos indivíduos com anemia falciforme com as variantes e ajustado para terapia com HU

Polimorfismo/Variável		Hb	Ht	HCM	VCM	LG	Neu	Mon	Pla
<i>NPRL3</i> rs11865131	r	0,088	0,022	0,122	0,029	0,082	0,080	-0,110	-0,035
	p	0,360	0,823	0,207	0,767	0,396	0,417	0,255	0,716
<i>PPARA</i> rs4253747	r	-0,083	-0,114	0,094	0,079	0,015	-0,046	0,085	-0,047
	p	0,390	0,238	0,334	0,417	0,877	0,643	0,380	0,630
<i>PPARG</i> rs10865710	r	-0,043	-0,021	0,055	0,099	-0,176	-0,139	-0,094	-0,052
	p	0,659	0,829	0,571	0,303	0,069	0,155	0,333	0,593
<i>PPARG</i> rs709158	r	0,034	0,021	0,117	0,102	0,115	0,137	-0,040	-0,120
	p	0,723	0,828	0,227	0,292	0,237	0,161	0,678	0,218
<i>PPARD</i> rs2016520	r	-0,003	-0,009	0,095	0,041	0,006	0,028	0,271	-0,032
	p	0,975	0,923	0,327	0,672	0,952	0,775	0,004	0,740

Nota: Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; LG: leucometria global; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas.
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 17 - Correlação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos dos indivíduos com anemia falciforme com as variantes e ajustado para terapia com HU

Polimorfismo/Variável		HbF	Ret	Fe	Fer	BT	BD	BI	LDH
<i>NPRL3</i> rs11865131	r	-0,121	0,046	-0,134	-0,045	0,124	0,140	0,111	0,070
	p	0,250	0,637	0,196	0,664	0,301	0,245	0,358	0,569
<i>PPARA</i> rs4253747	r	-0,215	-0,087	0,008	-0,045	0,031	-0,044	0,038	0,129
	p	0,039	0,374	0,938	0,663	0,798	0,714	0,751	0,289
<i>PPARG</i> rs10865710	r	0,037	0,141	0,119	0,078	0,031	0,004	0,031	-0,042
	p	0,723	0,148	0,251	0,451	0,799	0,975	0,795	0,733
<i>PPARG</i> rs709158	r	0,053	-0,011	-0,109	-0,053	0,016	0,111	0,002	-0,257
	p	0,613	0,910	0,295	0,605	0,892	0,358	0,986	0,033
<i>PPARD</i> rs2016520	r	0,002	0,014	0,111	-0,117	-0,009	0,079	-0,020	0,129
	p	0,987	0,888	0,283	0,256	0,940	0,512	0,866	0,291

Nota: HbF: hemoglobina fetal; Ret: reticulócitos; Fe: ferro; Ferr: ferritina; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 18 - Correlação dos parâmetros lipídicos e velocidade média máxima dos indivíduos com anemia falciforme com as variantes e ajustado para terapia com HU

Polimorfismo/Variável		APOA1	APOB	LDL	CT	HDL	TG	NHDL	VMM
<i>NPRL3</i> rs11865131	r	0,071	0,078	-0,006	-0,001	0,047	-0,033	-0,017	-0,025
	p	0,555	0,517	0,959	0,992	0,695	0,781	0,889	0,821
<i>PPARA</i> rs4253747	r	0,028	-0,157	-0,141	-0,122	0,031	-0,004	-0,129	-0,053
	p	0,818	0,188	0,238	0,307	0,794	0,972	0,281	0,631
<i>PPARG</i> rs10865710	r	-0,079	-0,176	-0,053	-0,065	-0,055	0,004	-0,046	-0,034

	p	0,512	0,139	0,659	0,589	0,646	0,971	0,700	0,761
<i>PPARG</i> rs709158	r	-0,094	-0,077	-0,078	-0,047	-0,037	0,095	-0,034	-0,186
	p	0,435	0,520	0,516	0,694	0,760	0,427	0,779	0,091
<i>PPARD</i> rs2016520	r	-0,024	-0,161	-0,055	-0,098	-0,011	-0,105	-0,088	-0,170
	p	0,843	0,176	0,649	0,412	0,929	0,378	0,463	0,122

Nota: APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; VMM: velocidade média máxima.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.5 ANÁLISES DO SNP rs4253747 (T/A) DE *PPARA* COM VARIÁVEIS LABORATORIAIS

Quando avaliado o efeito da variante rs4253747 (T/A) do gene *PPARA* no modelo de dominância, foi encontrada menor quantidade de plaquetas ($p= 0,036$), com efeito pequeno ($d= 0,478247$) no grupo NHU que portava os genótipos AT ou AA. Para o grupo HU que portava os genótipos AT ou AA, as bilirrubinas total e indireta ($p= 0,039$), apresentaram maiores níveis, com efeito moderado em ambas as variáveis (Tabela 19).

Tabela 19 - Avaliação do efeito genético de dominância do alelo de menor frequência da variante rs4253747 do gene *PPARA* nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais	Grupos	Efeito de dominância				p	d
		TT		AT + AA			
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	NHU	21	7,97 (1,20)	29	7,93 (1,44)	0,927 ¹	
	HU	22	8,82 (1,09)	38	8,43 (1,43)	0,174 ²	
	Todos	43	8,40 (1,21)	67	8,21 (1,45)	0,479 ¹	
Ht %	NHU	21	23,94 (3,77)	29	23,34 (4,00)	0,953 ²	
	HU	22	26,76 (3,49)	38	25,58 (4,13)	0,211 ²	
	Todos	43	25,38 (3,86)	67	24,61 (4,20)	0,337 ¹	
HCM pg	NHU	21	32,08 (14,19)	29	29,82 (2,63)	0,409 ²	
	HU	22	32,49 (3,79)	38	33,23 (4,20)	0,498 ¹	
	Todos	43	32,29 (10,15)	67	31,75 (3,96)	0,389 ²	
VCM fL	NHU	21	88,87 (9,68)	29	89,80 (7,00)	0,694 ¹	
	HU	22	98,68 (10,70)	38	100,75 (10,77)	0,475 ¹	
	Todos	43	93,89 (11,25)	67	96,01 (10,75)	0,323 ¹	
HbF %	NHU	16	11,58 (7,25)	20	8,91 (5,61)	0,168 ²	
	HU	21	18,10 (15,72)	36	12,78 (6,53)	0,293 ²	
	Todos	37	15,28 (13,03)	56	11,40 (6,44)	0,202 ²	
LG /mm ³	NHU	21	13026,10 (3757,65)	28	12642,18 (3205,71)	0,298 ¹	
	HU	22	9516,36 (2801,15)	38	10072,26 (2853,18)	0,467 ¹	
	Todos	43	11230,42 (3714,59)	66	11162,53 (3246,64)	0,920 ¹	
Neu /mm ³	NHU	20	6918,90 (3243,27)	27	7024,15 (2597,58)	0,902 ¹	

	HU	22	5458,55 (2637,72)	38	5297,13 (2417,49)	0,810 ¹	
	Todos	42	6153,95 (2997,19)	65	6014,51 (2618,29)	0,755 ²	
Mon /mm ³	NHU	21	302,81 (251,96)	28	372,79 (252,49)	0,317 ²	
	HU	22	244,96 (134,82)	38	251,50 (159,82)	0,806 ²	
	Todos	43	273,21 (200,43)	66	302,95 (211,35)	0,740 ²	
Pla (/mm ³)	NHU	21	530.666,67 (85.683,33)	28	480.250,00 (122.004,14)	0,036²	0,478
	HU	22	481.818,18 (155.801,66)	38	501.026,32 (158.290,78)	0,650 ¹	
	Todos	43	505.674,42 (127.450,03)	66	492.212,12 (143.362,10)	0,6181	
Ret (%)	NHU	21	5,92 (2,97)	28	5,14 (4,05)	0,1512	
	HU	21	4,96 (2,85)	38	4,56 (3,27)	0,3342	
	Todos	42	5,44 (2,92)	66	4,81 (3,60)	0,0852	
Fe	NHU	21	85,06 (35,23)	21	86,90 (53,49)	0,571 ²	
	HU	20	93,29 (34,39)	34	92,12 (47,92)	0,591 ²	
	Todos	41	89,07 (34,63)	55	90,13 (49,69)	0,536 ²	
Fer µg/L	NHU	21	157,07 (147,32)	21	293,79 (529,21)	0,678 ²	
	HU	21	358,95 (380,92)	34	189,95 (182,99)	0,072 ²	
	Todos	42	258,01 (302,99)	55	229,60 (356,07)	0,232 ²	
BT mg/dL	NHU	15	3,54 (1,70)	20	3,22 (1,46)	0,521 ²	
	HU	13	1,41 (0,76)	24	1,97 (0,88)	0,039²	0,623
	Todos	28	2,55 (1,71)	44	2,54 (1,32)	0,661 ²	
BD (mg/dL)	NHU	15	0,68 (0,20)	20	0,60 (0,14)	0,185 ¹	
	HU	13	0,42 (,20)	24	0,48 (0,14)	0,302 ¹	
	Todos	28	0,56 (0,24)	44	0,54 (0,15)	0,590 ¹	
BI mg/dL	NHU	15	2,85 (1,63)	20	2,61 (1,45)	0,587 ²	
	HU	13	0,98 (0,59)	24	1,49 (0,80)	0,039²	- 0,726
	Todos	28	1,99 (1,56)	44	2,00 (1,26)	0,564 ²	
LDH U/L	NHU	14	596,86 (143,93)	19	644,89 (219,42)	0,481 ¹	
	HU	13	453,69 (178,25)	24	504,79 (159,25)	0,378 ¹	
	Todos	27	527,93 (174,18)	43	566,70 (198,69)	0,408 ¹	
APOA1 mg/dL	NHU	14	99,50 (13,97)	20	102,35 (10,23)	0,104 ²	
	HU	13	109,08 (14,39)	26	107,35 (11,58)	0,687 ¹	
	Todos	27	104,11 (14,73)	46	105,17 (11,18)	0,729 ¹	
APOB (mg/dL)	NHU	14	60,14 (9,70)	20	57,50 (17,36)	0,6101	
	HU	13	75,69 (21,56)	26	67,04 (16,45)	0,1711	
	Todos	27	67,63 (18,01)	46	62,89 (17,34)	0,3522	
LDL mg/dL	NHU	14	62,97 (17,63)	20	61,43 (18,56)	0,691 ²	
	HU	13	82,51 (25,85)	26	72,43 (16,19)	0,216 ¹	
	Todos	27	72,38 (23,73)	46	67,65 (17,93)	0,526 ²	
CT mg/dL	NHU	14	119,43 (14,76)	20	116,65 (20,20)	0,274 ²	
	HU	13	137,77 (27,79)	26	129,73 (18,52)	0,489 ²	
	Todos	27	128,26 (23,51)	46	124,04 (20,14)	0,507 ²	
HDL mg/dL	NHU	14	37,79 (8,72)	20	36,20 (6,95)	0,986 ²	
	HU	13	38,46 (5,67)	26	40,65 (6,03)	0,150 ²	

	Todos	27	38,11 (7,28)	46	38,72 (6,75)	0,281 ²
TG mg/dL	NHU	14	94,07 (41,11)	20	95,05 (54,16)	0,823 ²
	HU	13	84,15 (30,46)	26	83,15 (30,48)	0,941
	Todos	27	89,30 (36,04)	46	88,33 (42,31)	0,868 ²
NHDL mg/dL	NHU	14	81,79 (14,76)	20	80,45 (20,56)	0,377 ²
	HU	13	99,31 (31,22)	26	89,0385 (18,26)	0,202 ¹
	Todos	27	90,22 (25,27)	46	85,30 (19,55)	0,457 ²

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase. 1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Nos resultados das análises do efeito de rs4253747 no modelo de recessividade, os participantes homozigotos para o alelo de menor frequência (genótipo AA) apresentavam menores índices de APOB ($p= 0,029$ e $d= 0,4114$ – efeito pequeno), reticulócitos ($p= 0,019$ e $d = 0,661604$ – efeito moderado) e quantidade maior de monócitos ($p= 0,040$ e $d= 0,504476$ efeito moderado). As demais variáveis não mostraram significância com os modelos genéticos (Tabela 20).

Tabela 20 - Avaliação do efeito genético de recessividade do alelo de menor frequência da variante rs4253747 do gene *PPARA* nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais	Efeito de recessividade				Efeito	
	TT + AT		AA		p	d
	N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	94	8,27 (1,18)	16	8,37 (2,17)	0,866 ¹	
Ht %	94	25,00 (3,65)	16	24,40 (6,12)	0,709 ¹	
HCM pg	94	32,01 (7,44)	16	31,66 (3,92)	0,852 ²	
VCM fL	94	95,65 (10,83)	16	92,42 (11,61)	0,233 ²	
HbF %	81	13,36 (10,02)	12	10,13 (7,37)	0,135 ²	
LG /mm ³	93	11301,99 (3357,19)	16	10534,38 (3828,26)	0,410 ¹	
Neu /mm ³	91	6153,03 (2786,88)	16	5592,69 (2636,61)	0,332 ²	
Mon /mm³	93	278,65 (204,28)	16	364,31 (212,08)	0,040²	0,411
Pla /mm ³	93	499.903,23 (131.479,05)	16	483.687,50 (169.095,92)	0,664 ¹	
Ret %	92	5,34 (3,42)	16	3,38 (2,42)	0,019²	0,662
Fe mcg/dL	84	90,07 (41,76)	12	86,91 (57,59)	0,370 ²	
Fer µg/L	85	261,84 (350,04)	12	100,68 (76,25)	0,064 ²	
BT mg/dL	57	2,54 (1,52)	15	2,55 (1,30)	0,734 ²	
BD mg/dL	57	0,56 (0,19)	15	0,51 (0,16)	0,343 ¹	

BI mg/dL	57	1,98 (1,42)	15	2,05 (1,22)	0,593 ²	
LDH U/L	55	547,38 (178,83)	15	567,73 (229,88)	0,715 ¹	
APOA1 mg/dL	58	105,00 (13,20)	15	103,93 (9,78)	0,771 ¹	
APOB mg/dL	58	66,48 (17,10)	15	57,53 (18,36)	0,029²	0,504
LDL mg/dL	58	71,44 (20,20)	15	61,49 (18,97)	0,052 ²	
CT mg/dL	58	127,26 (21,34)	15	119,20 (21,05)	0,106 ²	
HDL mg/dL	58	38,47 (7,11)	15	38,60 (6,27)	0,758 ²	
TG mg/dL	58	86,93 (33,11)	15	95,47 (60,37)	0,989 ²	
NHDL mg/dL	58	88,83 (21,35)	15	80,53 (23,01)	0,077 ²	

Nota: n número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase. 1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Realizamos análises de associação entre portadores do genótipo TT e os genótipos AT +AA comparando os grupos sem ou com terapia de HU. Os resultados encontram-se no Apêndice D (Tabela 52).

Foram realizadas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença do polimorfismo rs4253747 de *PPARA*, em modelo de dominância, são capazes de prever os níveis de BT, BI, Pla e HbF (variáveis significativas nas análises de associação e correlação, no modelo de dominância) dos indivíduos com AF (Tabela 21).

Os resultados apontam modelo significativo em prever os níveis de BT ($P[\chi^2]$ modelo ajustado=0,039). O modelo mais simplificado e, significativo, incluiu as variáveis: terapia com HU ($p=0,99$), idade ($p=0,06$) e dominância para *PPARA* ($p=0,01$). Dessa forma, o modelo sugere que a presença do alelo de menor frequência da variante rs4253747 de *PPARA* aumenta em 11 vezes (1044,7%) o risco de chance de encontrar níveis altos de BT (Estimativa: 2,438; OR: 11,447; IC: 1,754-74,72), em relação aos que não apresentam a variante A no genótipo. Entre os modelos de regressão não ajustados, o uso de HU mostrou significância para BT ($P[\chi^2]$ modelo não ajustado= $<0,001$), entretanto, não alcançou significância estatística ($p=0,992$) (Tabela 21).

A análise revelou um modelo estatisticamente significativo apenas na regressão logística binária, especificamente para a terapia com HU ($P[\chi^2]$ modelo não ajustado $< 0,001$), em relação aos níveis de BI. Os indivíduos com AF em terapia com HU possuem

uma probabilidade de 92% menor de apresentarem níveis elevados de BI (>0,9) (Estimativa: -2,531; OR: 0,08; IC: 0,017-0,382; p=0,002) (Tabela 21). Não encontramos modelos significativos para plaquetas (Tabela 21).

Quando os níveis de HbF foram analisados por regressão logística binária, encontramos um modelo significativo ($P[\chi^2]$ modelo ajustado = 0,037), que apontou o sexo (Estimativa: 3,004; OR=20,173; IC:1,425-285,624; p=0,026) e a terapia com HU (Estimativa: 2,231; OR=9,308; IC:1,190-72,842; p=0,034) como variáveis influenciadoras positivas para aumento dos níveis de HbF (Tabela 21).

Tabela 21 - Análise por regressão dos indivíduos com AF em relação aos níveis de BT, BI e Plaquetas no modelo genético de dominância para o rs 4253747 de *PPARA* ajustado para terapia com HU, sexo e idade

Variável	$P[\chi^2]$ Modelo não ajustado	OR não ajustada	IC Mín-Máx		p^6	$P[\chi^2]$ Modelo ajustado	OR ajustada	IC Mín-Máx		p
Bilirrubina Total: $\geq 1,2$ mg/dL										
Uso HU (sim)	<0,001 ⁶	7,519× 10 ⁻⁹	0	∞	0,992	0,039 ⁷	1,368× 10 ⁻⁹	0	∞	0,99 ⁷
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,071 ⁶	3,333	0,875	12,695	0,078	0,039 ⁷	11,447	1,754	74,72	0,01⁷
Idade (meses)	0,128 ⁶	1,014	0,995	1,033	0,143	0,039 ⁷	1,028	1,000	1,058	0,06 ⁷
Bilirrubina Indireta: $\geq 0,9$ mg/dL										
Uso HU (sim)	<0,001 ⁶	0,08	0,017	0,382	0,002	0,058 ⁷	0,058	0,01	0,33	0,001 ⁷
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,268 ⁶	1,842	0,626	5,422	0,267	0,058 ⁷	3,645	0,93	14,29	0,064 ⁷
Idade (meses)	0,07 ⁶	1,014	0,998	1,029	0,081	0,058 ⁷	1,018	0,999	1,038	0,069 ⁷
Plaquetas: $\geq 390.000,00$ /mm³										
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA)	0,739 ⁶	0,849	0,322	2,236	0,74	0,1 ⁷	3,067 ×10 ⁻⁸	0	∞	0,993 ⁸
Sexo (feminino)	0,195 ⁶	0,537	0,208	1,388	0,199	0,1 ⁷	6,937 ×10 ⁻⁸	0	∞	0,993 ⁸
Idade (meses)	0,616 ⁶	0,998	0,988	1,007	0,617	0,1 ⁷	1,001	0,991	1,012	0,788 ⁸
Uso HU (sim)	0,361 ⁶	0,641	0,244	1,683	0,367	0,1 ⁷	7,840× 10 ⁻⁸	0	∞	0,993 ⁸
Hemoglobina Fetal: ≥ 10 %										
Dominância <i>PPARA</i>	0,638 ⁶	0,818	0,355	1,887	0,638	0,037 ⁸	0,914	0,102	8,199	0,936

rs4253747 (AT+AA)										
Idade (meses)	0,969 ⁶	1,000	0,992	1,008	0,969	0,037 ⁸	0,999	0,99	1,008	0,823
Sexo (feminino)	0,152 ⁶	1,828	0,797	4,196	0,155	0,037 ⁸	20,173	1,425	285,624	0,026
Uso HU (sim)	0,063 ⁶	2,227	0,951	5,214	0,065	0,037 ⁸	9,308	1,190	72,834	0,034
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA) * Sexo (feminino)						0,037 ⁸	0,454	0,016	13,066	0,645
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA) * Uso HU (sim)						0,037 ⁸	0,899	0,059	13,713	0,939
Dominância <i>PPARA</i> rs4253747 (AT+AA) * Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,037 ⁸	1,490	0,025	89,569	0,849

Nota: HU: hidroxiuréia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo; 6: Regressão logística binária, método Enter, 7: Regressão logística múltipla, método Forward, 8: Regressão logística múltipla, método Enter.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Foram realizadas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença do polimorfismo rs4253747 de *PPARA*, em modelo de recessividade, predizem os níveis de monócitos, reticulócitos e APOB (variáveis significativas nas análises de associação, no modelo de recessividade) dos indivíduos com AF (Tabela 22).

Encontramos modelo de regressão logística binária significativo para níveis de Mon quando avaliada a terapia com HU ($P[\chi^2]$ modelo não ajustado=0,01); entretanto, o resultado da regressão não foi significativo ($p=0,994$). Para APOB, um modelo de regressão logística binária foi significativo para HU ($P[\chi^2]$ modelo não ajustado=0,002); entretanto, o resultado da regressão não foi significativo ($p=0,995$) (Tabela 22).

Tabela 22 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de monócitos, reticulócitos e APOB no modelo genético de recessividade para o rs 4253747 de *PPARA* e ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	P[χ^2] Modelo não ajustado	OR não ajustada	IC Mín-Máx		p ⁶	P[χ^2] Modelo ajustado	OR ajustada	IC Mín-Máx		p ⁸
Monócitos: $\geq 800 /\text{mm}^3$										
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA)	0,581	2,000	0,195	20,520	0,56	0,422	3,596	0,188	68,629	0,395
Idade (meses)	0,587	0,994	0,974	1,015	0,591	0,422	0,994	0,973	1,014	0,538
Uso HU (sim)	0,01	$1,317 \times 10^{-8}$	0	∞	0,994	0,422	$2,145 \times 10^{-8}$	0	∞	0,996
Sexo (feminino)	0,896	1,143	0,155	8,420	0,896	0,422	2,102	0,173	25,612	0,56
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA) * uso HU (sim)						0,422	0,319	0	∞	1,000
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA) * Sexo (feminino)						0,422	$2,419 \times 10^{-9}$	0	∞	0,999
Uso HU (sim) * Sexo (feminino)						0,422	0,503	0	∞	1,000
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA) * Uso HU (sim) * Sexo (feminino)						0,422	$3,616 \times 10^{-8}$	0	∞	0,999
Reticulócitos: $\geq 1,5 \%$										
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA)	0,195	0,357	0,082	1,557	0,17	0,274	$2,011 \times 10^{-7}$	0	∞	0,995
Sexo (feminino)	0,674	1,327	0,352	4,997	0,676	0,274	3,550	0,337	37,448	0,292
Uso HU (sim)	0,758	1,227	0,334	4,512	0,758	0,274	4,558	0,436	47,641	0,205
Idade (meses)	0,912	0,999	0,986	1,012	0,912	0,274	0,999	0,985	1,013	0,905
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA) * Sexo (feminino)						0,274	$2,387 \times 10^{-9}$	0	∞	0,994

Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA) * Uso HU (sim)						0,274	$2,911 \times 10^{-9}$	0	∞	0,994
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,274	0,119	0,004	3,617	0,222
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA) * Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,274	$7,515 \times 10^{+16}$	0	∞	0,993
APOB: ≥ 90 mg/dL										
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA)	0,654	0,619	0,069	5,574	0,669	0,149	0,915	0	∞	1,000
Idade (meses)	0,57	0,994	0,971	1,016	0,574	0,149	0,996	0,971	1,022	0,782
Sexo (feminino)	0,14	3,393	0,613	18,775	0,162	0,149	1,060	0	∞	1,000
Uso HU (sim)	0,002	$1,869 \times 10^+$ 8	0	∞	0,995	0,149	$1,242 \times 10^{+8}$	0	∞	0,997
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA) * Sexo (feminino)						0,149	0,87	0	∞	1,000
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA) * Uso HU (sim)						0,149	$8,364 \times 10^{-9}$	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,149	1,933	0	∞	1,000
Recessividade <i>PPARA</i> rs4253747 (AA) * Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,149	$2,409 \times 10^{+8}$	0	∞	0,999

Nota: HU: hidroxúria; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo; 6: Regressão logística binária, método Enter, 7: Regressão logística múltipla, método Forward, 8: Regressão logística múltipla, método Enter.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.6 ANÁLISES DO SNP rs10865710 (C/G) DE *PPARG* COM PARÂMETROS LABORATORIAIS

Não encontramos diferenças significativas quando analisamos os genótipos de rs10865710 no modelo aditivo e no modelo de dominância para os parâmetros laboratoriais avaliados neste estudo (Tabela 23).

Tabela 23 - Avaliação do efeito de dominância do alelo de menor frequência da variante rs10865710 do gene *PPARG* nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais	Grupos	Efeito de dominância de rs10865710				p	d
		CC		CG + GG			
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	NHU	26	7,95 (1,47)	24	7,94 (1,20)	0,966 ¹	
	HU	31	8,67 (1,11)	29	8,47 (1,53)	0,286 ²	
	Todos	57	8,34 (1,32)	53	8,23 (1,40)	0,672 ¹	
Ht %	NHU	26	23,56 (4,07)	24	23,63 (3,76)	0,977 ²	
	HU	31	26,18 (3,25)	29	25,83 (4,57)	0,728 ¹	
	Todos	57	24,99 (3,85)	53	24,83 (4,33)	0,844 ¹	
HCM pg	NHU	26	29,02 (3,29)	24	32,67 (12,93)	0,140 ²	
	HU	31	33,06 (3,85)	29	32,84 (4,29)	0,835 ¹	
	Todos	57	31,22 (4,11)	53	32,76 (9,16)	0,507 ²	
VCM fL	NHU	26	87,62 (7,82)	24	91,34 (8,22)	0,108 ¹	
	HU	31	99,81 (9,89)	29	100,19 (11,67)	0,706 ²	
	Todos	57	94,25 (10,83)	53	96,18 (11,09)	0,357 ¹	
HbF %	NHU	20	9,14 (4,82)	16	11,29 (8,03)	0,582 ²	
	HU	29	14,98 (13,10)	28	14,48 (8,60)	0,798 ²	
	Todos	49	12,60 (10,85)	44	13,32 (8,45)	0,506 ²	
LG /mm ³	NHU	26	13701,85 (3402,92)	23	11794,83 (3217,54)	0,173 ²	
	HU	31	10040,84 (2792,79)	29	9684,14 (2893,27)	0,375 ²	
	Todos	57	11710,77 (3568,23)	52	10617,71 (3190,94)	0,096 ¹	
Neu /mm ³	NHU	25	7377,44 (2944,35)	22	6527,00 (2750,69)	0,314 ¹	
	HU	31	5709,84 (2112,58)	29	4978,41 (2808,17)	0,133 ²	
	Todos	56	6454,30 (2630,03)	51	5646,43 (2862,50)	0,131 ¹	
Mon (/mm ³)	NHU	26	358,92 (279,13)	23	324,57 (222,32)	0,976 ²	
	HU	31	267,81 (180,66)	29	229,10 (107,86)	0,501 ²	
	Todos	57	309,37 (233,16)	52	271,33 (173,21)	0,671 ²	
Pla /mm ³	NHU	26	508538,46 (123751,12)	23	494304,35 (93880,70)	0,656 ¹	
	HU	31	500741,94 (149301,48)	29	486758,62 (165864,76)	0,732 ¹	
	Todos	57	504298,25 (137090,03)	52	490096,15 (137551,45)	0,591 ¹	
Ret %	NHU	26	4,72 (2,52)	23	6,33 (4,46)	0,136 ¹	
	HU	31	4,52 (2,61)	28	4,90 (3,62)	0,927 ²	

	Todos	57	4,61 (2,55)	51	5,54 (4,04)	0,150 ¹
Fe mcg/dL	NHU	21	83,02 (46,34)	21	88,94 (44,03)	0,597 ²
	HU	29	85,97 (30,47)	25	100,20 (53,83)	0,561 ²
	Todos	50	84,73 (37,54)	46	95,06 (49,39)	0,486 ²
Fer µg/L	NHU	21	158,10 (256,35)	21	292,76 (486,16)	0,801 ²
	HU	29	259,44 (312,16)	26	248,94 (256,73)	0,395 ²
	Todos	50	216,88 (291,65)	47	268,52 (372,92)	0,352 ²
BT mg/dL	NHU	17	3,30 (1,43)	18	3,40 (1,70)	0,909 ²
	HU	20	1,84 (,92)	17	1,70 (,83)	0,752 ²
	Todos	37	2,51 (1,38)	35	2,58 (1,58)	0,817 ²
BD mg/dL	NHU	17	0,63 (,16)	18	0,64 (0,18)	0,898 ¹
	HU	20	0,47 (,20)	17	0,45 (,11)	0,649 ¹
	Todos	37	0,55 (,20)	35	0,55 (,18)	0,988 ¹
BI mg/dL	NHU	17	2,67 (1,44)	18	2,76 (1,62)	0,858 ²
	HU	20	1,36 (,77)	17	1,26 (,79)	0,641 ²
	Todos	37	1,96 (1,29)	35	2,03 (1,48)	0,844 ²
LDH U/L	NHU	15	627,40 (208,50)	18	622,11 (179,16)	0,873 ²
	HU	20	508,20 (151,47)	17	461,71 (182,14)	0,402 ¹
	Todos	35	559,29 (185,21)	35	185,21 (195,64)	0,741 ¹
APOA1 mg/dL	NHU	15	101,47 (10,08)	19	100,95 (13,26)	0,607 ²
	HU	21	108,76 (13,77)	18	106,94 (10,96)	0,655 ¹
	Todos	36	105,72 (12,74)	37	103,86 (12,40)	0,530 ¹
APOB mg/dL	NHU	15	57,80 (13,99)	19	59,21 (15,37)	0,784 ¹
	HU	21	74,57 (15,44)	18	64,50 (20,64)	0,090 ¹
	Todos	36	67,58 (16,88)	37	61,78 (18,07)	0,069 ²
LDL mg/dL	NHU	15	59,00 (13,12)	19	64,48 (21,01)	0,359 ¹
	HU	21	78,52 (17,10)	18	72,60 (23,34)	0,367 ¹
	Todos	36	70,39 (18,20)	37	68,43 (22,25)	0,405 ²
CT mg/dL	NHU	15	116,87 (14,56)	19	118,53 (20,63)	0,973 ²
	HU	21	134,05 (19,03)	18	130,50 (25,48)	0,331 ²
	Todos	36	126,89 (19,12)	37	124,35 (23,58)	0,389 ²
HDL mg/dL	NHU	15	38,40 (6,47)	19	35,63 (8,42)	0,228 ²
	HU	21	39,19 (6,51)	18	40,78 (5,22)	0,229 ²
	Todos	36	38,86 (6,41)	37	38,14 (7,42)	0,748 ²
TG mg/dL	NHU	15	98,00 (58,84)	19	92,00 (40,11)	1,000 ²
	HU	21	81,76 (23,36)	18	85,50 (37,04)	0,855 ²
	Todos	36	88,53 (41,98)	37	88,84 (38,25)	0,882 ²
NHDL mg/dL	NHU	15	78,60 (15,19)	19	82,89 (20,41)	0,811 ²
	HU	21	94,86 (19,76)	18	89,67 (27,53)	0,248 ²
	Todos	36	88,08 (19,53)	37	86,19 (24,04)	0,337 ²

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade;

TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase. 1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Para análise de recessividade de rs10865710 foi encontrada diferença significativa para contagem de monócitos, estando esses reduzidos em indivíduos de genótipo GG ($p=0,040$) e o tamanho do efeito foi moderado ($d=0,728$) (Tabela 24).

Tabela 24 - Avaliação do efeito de recessividade do alelo de menor frequência da variante rs10865710 do gene *PPARG* nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais	Efeito de recessividade de rs10865710				p	d
	CC + CG		GG			
	N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	101	8,25 (1,39)	9	8,70 (,76)	0,343 ¹	
Ht %	101	24,74 (4,13)	9	26,83 (2,85)	0,140 ¹	
HCM pg	101	32,11 (7,19)	9	30,33 (4,72)	0,445 ²	
VCM fL	101	95,33 (10,57)	9	93,56 (15,27)	0,715 ²	
HbF %	86	12,69 (9,81)	7	16,04 (8,96)	0,227 ²	
LG /mm ³	100	11320,75 (3466,38)	9	9728,89 (2605,29)	0,183 ¹	
Neu /mm ³	99	6211,62 (2758,26)	8	4307,38 (2240,12)	0,093 ²	
Mon /mm ³	100	301,20 (211,02)	9	180,33 (103,03)	0,040²	0,728
Pla /mm ³	100	498330,00 (133571,08)	9	488555,56 (178815,63)	0,838 ¹	
Ret %	100	5,21 (3,39)	8	3,10 (2,15)	0,080 ²	
Fe mcg/dL	89	89,68 (44,02)	7	89,66 (42,55)	0,966 ²	
Fer µg/L	89	235,71 (341,23)	8	310,81 (220,87)	0,079 ²	
BT mg/dL	65	2,63 (1,51)	7	1,77 (0,74)	0,146 ²	
BD mg/dL	65	0,54 (0,19)	7	0,57 (0,16)	0,704 ¹	
BI mg/dL	65	2,08 (1,41)	7	1,20 (0,67)	0,068 ²	
LDH U/L	63	563,06 (189,77)	7	449,86 (162,41)	0,134 ¹	
APOA1 mg/dL	65	104,51 (12,52)	8	107,00 (13,09)	0,599 ¹	
APOB mg/dL	65	64,40 (17,03)	8	66,63 (23,14)	0,739 ¹	
LDL mg/dL	65	69,11 (19,91)	8	71,73 (24,06)	0,771 ²	
CT mg/dL	65	125,37 (20,73)	8	127,50 (27,73)	0,993 ²	
HDL mg/dL	65	38,58 (7,09)	8	37,75 (5,50)	0,839 ²	
TG mg/dL	65	88,51 (40,26)	8	90,13 (38,93)	0,860 ²	
NHDL mg/dL	65	86,80 (20,73)	8	89,75 (30,84)	1,000 ²	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase. 1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Realizamos análises de associação entre portadores do genótipo CC e os genótipos CG + GG no modelo de dominância de rs10865710 de *PPARG* comparando os grupos sem e com terapia com HU. Os resultados encontram-se no Apêndice E (Tabela 53).

Foram realizadas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença do polimorfismo rs10865710 de *PPARG*, em modelo de recessividade, podem prever a chance de alteração na contagem de monócitos, (variável significativa nas análises de associação, no modelo de recessividade) dos indivíduos com AF. O modelo regressão logística binário para HU foi significativo ($P[\chi^2]$ Modelo não ajustado=0,01), entretanto, o resultado não apresentou significância ($p=0,994$) (Tabela 25).

Tabela 25 – Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de monócitos no modelo genético de recessividade para o rs10865710 de *PPARG* e ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	$P[\chi^2]$ Modelo não ajustado	OR não ajustada	IC Mín-Máx		p^6	$P[\chi^2]$ Modelo ajustado	OR ajustada	IC Mín-Máx		p^8
Monócitos: ≥ 800 /mm³										
Recessividade <i>PPARG</i> rs10865710 (GG)	0,402	$2,075 \times 10^{-7}$	0	∞	0,994	0,49	$1,334 \times 10^{-8}$	0	∞	0,999
Sexo (feminino)	0,896	1,143	0,155	8,420	0,896	0,49	1,131	0,144	8,878	0,907
Idade (meses)	0,587	0,994	0,974	1,015	0,591	0,49	0,995	0,976	1,014	0,577
Uso HU (sim)	0,010	$1,317 \times 10^{-8}$	0	∞	0,994	0,49	$1,271 \times 10^{-8}$	0	∞	0,996
Recessividade <i>PPARG</i> rs10865710 (GG) * Sexo (feminino)						0,49	1,013	0	∞	1,000
Recessividade <i>PPARG</i> rs10865710 (GG) * Uso HU (sim)						0,49	$8,466 \times 10^{-7}$	0	∞	0,999
Sexo (Feminino) * uso HU (sim)						0,49	0,909	0	∞	1,000

Recessividade <i>PPARG</i> rs10865710 (GG) * Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,49	0,976	0	∞	1,000
--	--	--	--	--	--	------	-------	---	----------	-------

Nota: HU: hidroxíureia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo; 6: Regressão logística binária, método Enter, 7: Regressão logística múltipla, método Forward, 8: Regressão logística múltipla, método Enter.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.7 ANÁLISES DO SNP rs709158 (A/G) DE *PPARG* COM PARÂMETROS LABORATORIAIS

A análise de dominância de rs709158 (A/G) mostrou que no grupo HU, portadores dos genótipos AG ou GG, havia níveis maiores de HbF com efeito pequeno ($p= 0,025$ e $d= 0,334$) e menor contagem de plaquetas com efeito moderado ($p= 0,010$ e $d= 0,723$). Na população total o alelo G foi associado a menores níveis de LDH com efeito moderado ($p= 0,042$ e $d= 0,577$) (Tabela 26). As demais variáveis não mostraram significância com os modelos genéticos.

Tabela 26 – Avaliação do efeito de dominância do alelo de menor frequência da variante rs709158 do gene *PPARG* nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais	Grupos	Efeito de dominância de rs709158 <i>PPARG</i>					Efeito	
		AA		AG + GG		p	d	
		N	Média (dp)	N	Média (dp)			
Hb g/dL	NHU	34	8,02 (1,34)	16	7,78 (1,35)	0,819 ²		
	HU	40	8,45 (1,42)	20	8,82 (1,09)	0,122 ²		
	Todos	74	8,25 (1,39)	36	8,36 (1,30)	0,302 ²		
Ht %	NHU	34	23,76 (3,80)	16	23,24 (4,15)	0,668 ¹		
	HU	40	25,77 (4,27)	20	26,50 (3,15)	0,327 ²		
	Todos	74	24,84 (4,16)	36	25,05 (3,93)	0,801 ¹		
HCM pg	NHU	34	31,14 (11,07)	16	29,98 (3,84)	0,950 ²		
	HU	40	32,58 (4,03)	20	33,70 (4,04)	0,316 ¹		
	Todos	74	31,92 (8,04)	36	32,05 (4,33)	0,399 ²		
VCM fL	NHU	34	88,54 (7,27)	16	91,25 (9,76)	0,277 ²		
	HU	40	99,48 (10,89)	20	101,03 (10,50)	0,601 ¹		
	Todos	74	94,45 (10,83)	36	96,68 (11,18)	0,319 ¹		
HbF %	NHU	22	10,59 (6,81)	14	9,32 (5,97)	0,597 ²		
	HU	39	13,66 (12,20)	18	17,07 (7,69)	0,025²	0,334	
	Todos	61	12,55 (10,62)	32	13,68 (7,91)	0,236 ²		
LG /mm ³	NHU	33	12172,15 (3396,26)	16	14115,50 (3181,55)	0,061 ¹		

	HU	40	9952,25 (2883,14)	20	9700,80 (2764,95)	0,748 ¹	
	Todos	73	10955,77 (3296,47)	36	11662,89 (3665,78)	0,313 ²	
Neu /mm ³	NHU	32	6529,59 (2715,68)	15	7938,87 (3006,09)	0,116 ¹	
	HU	40	5465,05 (2447,25)	20	5138,85 (2592,68)	0,796 ²	
	Todos	72	5938,18 (2606,44)	35	6338,86 (3074,71)	0,383 ²	
Mon /mm ³	NHU	33	365,42 (262,73)	16	296,13 (229,36)	0,147 ²	
	HU	40	241,23 (155,71)	20	264,86 (140,363)	0,272 ²	
	Todos	73	297,37 (218,37)	36	278,76 (183,00)	0,794 ²	
Pla /mm ³	NHU	33	483.393,94 (88.306,62)	16	539.937,50 (140.295,15)	0,091 ¹	0,723
	HU	40	530.125,00 (146.562,18)	20	421.700,00 (153.465,96)	0,010¹	
	Todos	73	509.000,00 (125.097,96)	36	474.250,00 (157.388,76)	0,226 ²	
Ret %	NHU	33	5,64 (4,10)	16	5,13 (2,38)	0,991 ²	
	HU	39	4,61 (2,73)	20	4,88 (3,81)	0,936 ²	
	Todos	72	5,08 (3,44)	36	4,99 (3,21)	0,938 ²	
Fe mcg/dL	NHU	30	85,21 (45,08)	12	87,92 (45,81)	0,837 ²	
	HU	35	99,49 (47,74)	19	79,78 (29,80)	0,147 ²	
	Todos	65	92,90 (46,72)	31	82,93 (36,31)	0,459 ²	
Fer µg/L	NHU	30	203,17 (353,60)	12	281,08 (481,82)	0,371 ²	
	HU	36	296,14 (299,27)	19	175,53 (242,93)	0,061 ²	
	Todos	66	253,88 (325,86)	31	216,39 (351,09)	0,092 ²	
BT mg/dL	NHU	25	3,31 (1,46)	10	3,46 (1,83)	0,872 ²	
	HU	24	1,73 (0,85)	13	1,86 (0,94)	0,679 ¹	
	Todos	49	2,54 (1,43)	23	2,56 (1,59)	0,942 ²	
BD mg/dL	NHU	25	0,62 (0,15)	10	0,68 (0,21)	0,627 ²	
	HU	24	0,45 (0,15)	13	0,49 (0,19)	0,518 ¹	
	Todos	49	,54 (,17)	23	,57 (,22)	0,448 ¹	
BI mg/dL	NHU	25	2,69 (1,43)	10	2,78 (1,77)	0,815 ²	
	HU	24	1,28 (0,76)	13	1,37 (0,82)	0,790 ²	
	Todos	49	2,00 (1,34)	23	1,98 (1,47)	0,828 ²	
LDH U/L	NHU	25	638,76 (206,32)	8	580,00 (126,45)	0,455 ¹	0,577
	HU	24	522,46 (178,07)	13	421,08 (119,24)	0,075 ¹	
	Todos	49	581,80 (199,82)	21	481,62 (142,76)	0,042¹	
APOA1 mg/dL	NHU	26	102,12 (13,06)	8	98,13 (5,72)	0,411 ¹	
	HU	26	108,81 (11,99)	13	106,15 (13,57)	0,826 ²	
	Todos	52	105,46 (12,86)	21	103,10 (11,74)	0,469 ¹	
APOB mg/dL	NHU	26	58,81 (14,53)	8	57,88 (15,71)	0,877 ¹	
	HU	26	72,00 (17,73)	13	65,77 (20,00)	0,159 ²	
	Todos	52	65,40 (17,38)	21	62,76 (18,48)	0,565 ¹	
LDL mg/dL	NHU	26	63,23 (19,00)	8	58,28 (14,32)	0,485 ²	
	HU	26	77,31 (18,41)	13	72,75 (23,80)	0,268 ²	
	Todos	52	70,30 (19,84)	21	67,24 (21,53)	0,414 ²	
CT mg/dL	NHU	26	118,58 (18,86)	8	115,25 (15,54)	0,618 ²	
	HU	26	133,69 (19,64)	13	129,85 (26,82)	0,338 ²	
	Todos	52	126,13 (20,53)	21	124,29 (23,85)	0,506 ²	

HDL mg/dL	NHU	26	37,50 (8,52)	8	34,75 (34,00)	0,510 ²
	HU	26	39,77 (5,60)	13	40,23 (6,76)	0,895 ²
	Todos	52	38,63 (7,23)	21	38,14 (6,17)	0,696 ²
TG mg/dL	NHU	26	89,58 (36,77)	8	111,13 (76,62)	0,705 ²
	HU	26	83,15 (29,10)	13	84,15 (33,16)	0,670 ²
	Todos	52	86,37 (32,99)	21	94,43 (53,80)	0,961 ²
NHDL mg/dL	NHU	26	81,15 (19,28)	8	80,50 (15,06)	0,921 ²
	HU	26	93,88 (21,07)	13	89,62 (28,42)	0,255 ²
	Todos	52	87,52 (21,00)	21	86,14 (24,18)	0,439 ²

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Não foram encontradas diferenças significativas com os genótipos de rs709158 em análise de recessividade nos parâmetros laboratoriais avaliados nesse estudo (Tabela 27).

Tabela 27 - Avaliação do efeito de recessividade do alelo de menor frequência da variante rs709158 do gene *PPARG* nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais	Efeito de recessividade de rs709158 <i>PPARG</i>				p	Efeito d
	AA + AG		GG			
	N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	103	8,27 (1,37)	7	8,50 (1,12)	0,670 ¹	
Ht %	103	24,90 (4,11)	7	25,14 (3,63)	0,877 ¹	
HCM pg	103	32,00 (7,23)	7	31,34 (2,69)	0,937 ²	
VCM fL	103	95,12 (11,24)	7	96,14 (5,27)	0,699 ²	
HbF %	88	13,08 (9,95)	5	10,40 (4,73)	0,695 ²	
LG /mm ³	102	11224,85 (3457,67)	7	10671,43 (3035,19)	0,681 ¹	
Neu /mm ³	100	6042,45 (2802,08)	7	6452,00 (2203,84)	0,623 ²	
Mon /mm ³	102	291,23 (207,57)	7	291,17 (209,13)	0,762 ²	
Pla /mm ³	102	498.637,25 (136.704,48)	7	481.285,71 (149.108,14)	0,814 ²	
Ret %	101	4,97 (3,20)	7	6,23 (5,30)	0,339 ¹	
Fe mcg/dL	89	89,55 (43,89)	7	91,28 (44,43)	0,916 ²	
Fer µg/L	90	241,14 (321,47)	7	251,71 (488,43)	0,181 ²	
BT mg/dL	99	2,57 (1,48)	5	1,72 (1,30)	0,432 ²	
BD mg/dL	99	0,55 (0,18)	5	0,46 (0,37)	0,776 ²	
BI mg/dL	99	2,02 (1,38)	5	1,27 (0,93)	0,414 ²	
LDH U/L	68	553,72 (188,95)	2	484,50 (265,17)	0,770 ²	

APOA1 mg/dL	71	104,86 (12,63)	2	102,00 (9,90)	0,829 ²	
APOB mg/dL	71	64,21 (17,63)	2	80,00 (9,90)	0,171 ¹	
LDL mg/dL	71	68,88 (20,25)	2	87,60 (9,90)	0,160 ²	
CT mg/dL	71	125,04 (21,26)	2	145,50 (21,92)	0,195 ²	
HDL mg/dL	71	38,54 (7,00)	2	37,00 (1,41)	0,880 ²	
TG mg/dL	71	88,24 (39,83)	2	104,50 (53,03)	0,575 ²	
NHDL mg/dL	71	86,52 (21,67)	2	108,50 (20,51)	0,195 ²	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicérides; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Realizamos análises de associação entre portadores do genótipo AA e os genótipos AG + GG no modelo de dominância de rs709158 de *PPARG* comparando os grupos sem e com terapia com HU. Os resultados encontram-se no Apêndice F (Tabela 54).

Para prever se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença do polimorfismo rs709158 de *PPARG* alteram os níveis de HbF, LDH ou contagem de plaquetas (variáveis significativas nas análises de associação e correlação, no modelo de dominância), foram realizadas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward).

Os resultados apontam modelo significativo ($P[\chi^2]$ modelo ajustado = 0,018) no qual indivíduos em terapia com HU apresentam uma chance de aproximadamente 6,6 vezes (562,7%) maior de aumento nos níveis de HbF em comparação com aqueles que não estavam em terapia (Estimativa: 0,801; OR: 6,627; IC1,33-33,015; $p=0,021$). Contudo, para as demais variáveis do modelo, não foram encontradas significâncias (Tabela 28). Os modelos de regressão logística binária e binária múltipla (método Forward) revelaram significância ($p[\chi^2]$ modelo=0,034) em que há aproximadamente 91,5% de chance de níveis reduzidos de LDH (Estimativa: -1,242; OR:0,289; IC:0,085-0,984; $p=0,047$) nos indivíduos com o alelo G do polimorfismo rs709158 de *PPARG* no modelo genético de dominância, em relação aos que não possuíam a variante (Tabela 28). Portanto, o alelo G é um protetor para níveis altos de LDH. Não encontramos modelos significativos para plaquetas.

Tabela 28 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de hemoglobina fetal, plaquetas, Velocidade Média Máxima e LDH no modelo genético de dominância para o rs709158 de *PPARG*, ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	P[χ^2] Modelo não ajustado	OR não ajustada	IC Mín-Máx		p	P[χ^2] Modelo ajustado	OR ajustada	IC Mín-Máx		p
Hemoglobina Fetal: ≥ 10 %										
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,431 ⁶	1,414	0,595	3,362	0,433	0,018 ⁷	0,477	0,041	5,613	0,556
Idade (meses)	0,969 ⁶	1	0,992	1,008	0,969	0,018 ⁷	0,997	0,987	1,007	0,541
Sexo (feminino)	0,152 ⁶	1,828	0,797	4,196	0,155	0,018 ⁷	6,46	0,967	43,178	0,054
Uso HU (sim)	0,063 ⁶	2,227	0,951	5,214	0,065	0,018 ⁷	6,627	1,33	33,015	0,021
Plaquetas: $\geq 390.000,00$ /mm³										
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,064 ⁶	0,403	0,155	1,049	0,063	0,228 ⁸	0,263	0,02	3,375	0,305
Idade (meses)	0,616 ⁶	0,998	0,988	1,007	0,617	0,228 ⁸	0,997	0,986	1,008	0,608
Sexo (feminino)	0,195 ⁶	0,537	0,208	1,388	0,199	0,228 ⁸	0,208	0,02	2,122	0,185
Uso HU (sim)	0,361 ⁶	0,641	0,244	1,683	0,367	0,228 ⁸	0,395	0,037	4,253	0,444
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG) * Sexo (feminino)						0,228 ⁸	7,050	0,193	257,947	0,288
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG) * Uso HU (sim)						0,228 ⁸	1,728	0,073	41,078	0,735
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,228 ⁸	4,473	0,247	81,095	0,311
Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG) * Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,228 ⁸	0,035	0	2,826	0,135
LDH: ≥ 610 U/L										

Dominância <i>PPARG</i> rs709158 (AG+GG)	0,034 ⁶	0,289	0,085	0,984	0,047	0,034 ⁷	0,289	0,085	0,984	0,047
---	--------------------	-------	-------	-------	--------------	--------------------	-------	-------	-------	--------------

Nota: HU: hidroxúria; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo; 6: Regressão logística binária, método Enter, 7: Regressão logística múltipla, método Forward, 8: Regressão logística múltipla, método Enter.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.8 ANÁLISES DO SNP rs2016520 (T/C) DE *PPARD* COM PARÂMETROS LABORATORIAIS

Não encontramos diferenças significativas para as variáveis laboratoriais com os modelos de genótipos analisados de rs2016520 (Tabelas 29 e 30).

Tabela 29 - Avaliação do efeito de dominância do alelo de menor frequência da variante rs2016520 do gene *PPARD* nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais	Grupos	Efeito de dominância de rs2016520 <i>PPARD</i>					Efeito	
		TT		CC + CT		p	d	
		N	Média (dp)	N	Média (dp)			
Hb g/dL	NHU	37	8,02 (1,43)	13	7,75 (1,03)	0,535 ¹		
	HU	39	8,51 (1,41)	21	8,69 (1,16)	0,810 ²		
	Todos	76	8,27 (1,43)	34	8,33 (1,19)	0,840 ¹		
Ht %	NHU	37	23,74 (4,12)	13	23,16 (3,21)	0,647 ¹		
	HU	39	25,92 (4,18)	21	26,19 (3,46)	0,834 ²		
	Todos	76	24,86 (4,27)	34	25,03 (3,64)	0,836 ¹		
HCM pg	NHU	37	30,97 (10,78)	13	30,21 (2,74)	0,394 ²		
	HU	39	32,73 (4,18)	21	33,38 (3,81)	0,558 ¹		
	Todos	76	31,87 (8,09)	34	32,17 (3,74)	0,180 ²		
VCM fL	NHU	37	89,22 (8,83)	13	89,95 (6,09)	0,782 ¹		
	HU	39	99,67 (11,18)	21	100,60 (9,97)	0,751 ²		
	Todos	76	94,58 (11,33)	34	96,53 (10,07)	0,346 ²		
HbF %	NHU	27	10,70 (6,93)	9	8,28 (4,48)	0,387 ¹		
	HU	36	14,33 (8,24)	21	15,42 (14,86)	0,843 ²		
	Todos	63	12,78 (7,87)	30	13,28 (12,99)	0,708 ²		
LG /mm ³	NHU	37	12835,92 (3627,63)	12	12716,67 (2824,51)	0,918 ¹		
	HU	39	9786,05 (2700,32)	21	10021,43 (3101,96)	0,761 ²		
	Todos	76	11270,86 (3516,52)	33	11001,52 (3238,79)	0,708 ¹		
Neu /mm ³	NHU	35	6917,54 (2879,88)	12	7159,67 (2906,22)	0,803 ¹		
	HU	39	5351,62 (2516,58)	21	5365,05 (2470,28)	0,739 ²		
	Todos	74	6092,26 (2789,11)	33	6017,64 (2736,03)	0,898 ¹		
Mon /mm ³	NHU	37	301,81 (196,35)	12	469,17 (357,77)	0,174 ²		
	HU	39	217,46 (101,76)	21	307,87 (202,77)	0,121 ²		

	Todos	76	258,53 (159,85)	33	366,52 (275,51)	0,073 ²	
Pla /mm ³	NHU	37	492621,62 (101970,14)	12	530333,33 (132122,07)	0,617 ²	
	HU	39	508282,05 (144165,28)	21	467428,57 (177399,15)	0,339 ²	
	Todos	76	500657,89 (124833,71)	33	490303,03 (163137,69)	0,718 ¹	
Ret %	NHU	37	5,32 (2,94)	12	5,95 (5,33)	0,605 ¹	
	HU	38	4,78 (3,44)	21	4,56 (2,46)	0,981 ²	
	Todos	75	5,05 (3,19)	33	5,064 (3,74)	0,679 ²	
Fe mcg/dL	NHU	32	84,19 (41,23)	10	91,70 (56,73)	0,873 ²	
	HU	34	88,15 (41,47)	20	100,05 (45,73)	0,375 ²	
	Todos	66	86,23 (41,08)	30	97,27 (48,83)	0,382 ²	
Fer µg/L	NHU	32	208,20 (314,28)	10	280,55 (589,71)	0,716 ²	
	HU	35	320,25 (334,59)	20	139,38 (90,35)	0,059 ²	
	Todos	67	266,73 (327,48)	30	186,44 (343,30)	0,232 ²	
BT mg/dL	NHU	25	3,49 (1,74)	10	3,02 (0,91)	0,733 ²	
	HU	24	1,68 (0,79)	13	1,95 (1,01)	0,382 ¹	
	Todos	49	2,60 (1,63)	23	2,41 (1,09)	0,918 ²	
BD mg/dL	NHU	25	0,63 (0,18)	10	0,67 (0,14)	0,525 ¹	
	HU	24	0,46 (0,17)	13	0,47 (0,14)	0,902 ¹	
	Todos	49	0,54 (0,20)	23	0,55 (0,17)	0,844 ¹	
BI mg/dL	NHU	25	2,86 (1,69)	10	2,35 (0,89)	0,602 ²	
	HU	24	1,22 (0,68)	13	1,48 (0,92)	0,404 ²	
	Todos	49	2,06 (1,53)	23	1,86 (,99)	0,918 ²	
LDH U/L	NHU	23	623,13 (197,93)	10	627,70 (180,28)	0,951 ¹	
	HU	24	461,71 (162,6)	13	533,23 (168,17)	0,214 ¹	
	Todos	47	540,70 (196,27)	23	574,30 (176,11)	0,489 ¹	
APOA1 mg/dL	NHU	23	100,52 (13,18)	11	102,55 (8,59)	0,188 ²	
	HU	25	108,64 (12,91)	14	106,64 (11,86)	0,636 ¹	
	Todos	48	104,75 (13,53)	25	104,84 (10,55)	0,977 ¹	
APOB mg/dL	NHU	23	60,17 (15,24)	11	55,27 (13,12)	0,367 ¹	
	HU	25	71,68 (19,08)	14	66,79 (17,63)	0,435 ¹	
	Todos	48	66,17 (18,12)	25	61,72 (16,56)	0,309 ¹	
LDL mg/dL	NHU	23	61,91 (19,02)	11	62,38 (16,26)	0,744 ²	
	HU	25	76,78 (21,06)	14	74,01 (19,09)	0,686 ¹	
	Todos	48	69,66 (21,27)	25	68,90 (18,50)	0,963 ²	
CT mg/dL	NHU	23	119,13 (18,92)	11	115,00 (16,28)	0,663 ²	
	HU	25	133,28 (23,76)	14	130,86 (19,22)	0,746 ¹	
	Todos	48	126,50 (22,51)	25	123,88 (19,37)	0,740 ²	
HDL mg/dL	NHU	23	37,04 (7,82)	11	36,45 (7,59)	0,445 ²	
	HU	25	39,72 (5,15)	14	40,29 (7,31)	0,965 ²	
	Todos	48	38,44 (6,64)	25	38,60 (7,53)	0,576 ²	
TG mg/dL	NHU	23	100,87 (53,03)	11	81,64 (36,19)	0,214 ²	
	HU	25	83,92 (33,83)	14	82,71 (23,02)	0,696 ²	
	Todos	48	92,04 (44,43)	25	82,24 (28,87)	0,519 ²	
	NHU	23	82,09 (19,73)	11	78,73 (14,96)	0,800 ²	

NHDL mg/dL	HU	25	93,52 (25,09)	14	90,57 (21,06)	0,712 ¹
	Todos	48	88,04 (23,17)	25	85,36 (19,22)	0,727 ²

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 30 - Avaliação do efeito de recessividade do alelo de menor frequência da variante rs2016520 do gene *PPARD* nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais	Efeito de recessividade de rs2016520				p	Efeito d
	CT + TT		CC			
	N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	107	8,30 (1,37)	3	8,00 (0,80)	0,712 ¹	
Ht %	107	24,91 (4,12)	3	24,83 (1,77)	0,973 ¹	
HCM pg	107	31,94 (7,11)	3	32,70 (2,43)	0,482 ²	
VCM fL	107	95,00 (10,95)	3	101,67 (10,50)	0,311 ²	
HbF %	91	13,07 (9,80)	2	7,15 (4,74)	0,328 ²	
LG /mm ³	106	11175,80 (3450,38)	3	11666,67 (2650,16)	0,808 ¹	
Neu /mm ³	104	6036,39 (2760,67)	3	7208,00 (3046,21)	0,499 ²	
Mon /mm ³	106	292,86 (209,26)	3	233,33 (53,00)	0,965 ²	
Pla /mm ³	106	500462,26 (136484,30)	3	393666,67 (129731,78)	0,245 ²	
Ret %	105	5,02 (3,98)	3	6,13 (2,49)	0,387 ²	
Fe mcg/dL	93	89,52 (43,43)	3	94,47 (62,13)	0,984 ²	
Fer µg/L	94	243,19 (337,31)	3	201,47 (146,31)	0,614 ²	
BT mg/dL	71	2,55 (1,48)	1	--- (---)	0,917 ²	
BD mg/dL	71	0,5424 (0,18)	1	--- (---)	0,111 ²	
BI mg/dL	71	2,00 (1,38)	1	--- (---)	0,833 ²	
LDH U/L	69	554,19 (189,54)	1	--- (---)	0,286 ²	
APOA1 mg/dL	72	104,90 (12,56)	1	--- (---)	0,521 ²	
APOB mg/dL	72	64,46 (17,67)	1	--- (---)	0,466 ²	
LDL mg/dL	72	69,06 (20,16)	1	--- (---)	0,329 ²	
CT mg/dL	72	125,36 (21,44)	1	--- (---)	0,521 ²	
HDL mg/dL	72	38,56 (6,93)	1	--- (---)	0,466 ²	
TG mg/dL	72	88,89 (40,09)	1	--- (---)	0,932 ²	
NHDL mg/dL	72	86,82 (21,80)	1	--- (---)	0,384 ²	

N: número de indivíduos; dp: desvio padrão; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não

lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase; Teste T de Students; 2: Mann Whitney.
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Realizamos análises de associação entre portadores do genótipo TT e os genótipos TC + CC no modelo de dominância de rs2016520 de *PPARD* comparando os grupos sem e com terapia com HU. Os resultados encontram-se no Apêndice G (Tabela 55).

Não houve modelo significativo para as análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença do polimorfismo *PPARD* rs2016520 (em modelo de dominância) podem prever a chance de alterar níveis de monócitos (variável significativa nas análises de correlação) dos indivíduos com AF (Tabela 31).

Tabela 31- Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de monócitos no modelo genético de dominância para o rs2016520 de *PPARD*, ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	P[χ^2] Modelo não ajustado	OR não ajustada	IC Mín-Máx		p	P[χ^2] Modelo ajustado	OR ajustada	IC Mín-Máx		p
Monócitos: ≥ 800 /mm³										
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT)	0,401 ⁶	2,387	0,322	17,715	0,395	0,125 ⁸	7,351 $\times 10^{+8}$	0,000	∞	0,998
Idade (meses)	0,587 ⁶	0,994	0,974	1,015	0,591	0,125 ⁸	0,996	0,972	1,020	0,722
Uso HU (sim)	0,010 ⁶	1,317 $\times 10^{-8}$	0,000	∞	0,994	0,125 ⁸	0,923	0,000	∞	1,000
Sexo (feminino)	0,896 ⁶	1,143	0,155	8,420	0,896	0,125 ⁸	2,704 $\times 10^{+8}$	0,000	∞	0,998
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT) * Uso HU (sim)						0,125 ⁸	1,574 $\times 10^{-9}$	0,000	∞	0,999
Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT) * Sexo (feminino)						0,125 ⁸	5,544 $\times 10^{-18}$	0,000	∞	0,998
Uso HU (sim) * Sexo (feminino)						0,125 ⁸	3,959 $\times 10^{-9}$	0,000	∞	0,999

Dominância <i>PPARD</i> rs2016520 (CC + CT) * Uso HU (sim) * Sexo (feminino)						0,125 ⁸	1,613×10 ⁺¹⁷	0,000	∞	0,999
--	--	--	--	--	--	--------------------	-------------------------	-------	---	-------

Nota: HU: hidroxiuréia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo; 6: Regressão logística binária, método Enter, 7: Regressão logística múltipla, método Forward, 8: Regressão logística múltipla, método Enter.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.9 ANÁLISES DA CO-HERANÇA DE ALFA-TAL COM PARÂMETROS LABORATORIAIS

Foram encontradas diferenças significativas para menores valores de VCM e HCM entre os indivíduos portadores de alfa-tal, com efeito elevado na maioria dos grupos de estudo. Também encontramos redução nos níveis de LDH entre os indivíduos em terapia com HU e co-herança de alfa-tal, com efeito elevado. Os demais parâmetros não alcançaram significância (Tabela 32).

Tabela 32 - Comparação dos perfis bioquímico e hematológico dos indivíduos com AF e co-herança de alfa-tal

Parâmetros laboratoriais	Grupos	Genótipos					Efeito
		Sem deleção		Co-herança de Alfa-tal Uma ou duas deleções		p	
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		d
Hb g/dL	NHU	38	7,97 (1,45)	12	7,87 (0,92)	0,816 ¹	
	HU	51	8,58 (1,40)	9	8,53 (0,76)	0,926 ¹	
	Todos	89	8,32 (1,45)	21	8,15 (0,90)	0,615 ¹	
Ht %	NHU	38	23,48 (4,20)	12	23,96 (2,75)	0,474 ²	
	HU	51	25,95 (4,05)	9	26,37 (3,23)	0,771 ¹	
	Todos	89	24,89 (4,27)	21	24,99 (3,14)	0,906 ¹	
HCM pg	NHU	38	31,83 (10,5)	12	27,42 (1,55)	0,001²	0,588
	HU	51	33,57 (3,93)	9	29,5 (2,84)	0,006²	1,187
	Todos	89	32,82 (7,47)	21	28,31 (2,38)	<0,001²	0,814
VCM fL	NHU	38	91,32 (8,35)	12	83,35 (2,93)	<0,001¹	1,274
	HU	51	101,64 (10,45)	9	90,67 (6,80)	0,004¹	1,244
	Todos	89	97,23 (10,85)	21	86,49 (6,08)	<0,001²	1,221
HbF %	NHU	30	10,12 (6,75)	6	10,00 (5,04)	0,820 ²	
	HU	48	15,23 (11,76)	9	12,10 (5,41)	0,654 ²	
	Todos	78	13,26 (10,39)	15	11,26 (5,19)	0,826 ²	
Ret %	NHU	38	5,95 (3,79)	11	3,85 (2,39)	0,090 ¹	
	HU	50	4,81 (3,19)	9	4,10 (2,67)	0,635 ²	

	Todos	88	5,10 (3,49)	20	3,96 (2,46)	0,142 ²	
LG /mm ³	NHU	38	13049,50 (3529,07)	11	11968,00 (3014,10)	0,276 ²	
	HU	51	9858,94 (2872,76)	9	9922,22 (2683,64)	0,951 ¹	
	Todos	89	11221,20 (3527,67)	20	11047,40 (2983,99)	0,822 ¹	
Neu /mm ³	NHU	37	7190,30 (2542,81)	10	6198,90 (3871,67)	0,336 ¹	
	HU	51	5356,43 (2500,97)	9	5355,67 (2499,16)	0,999 ¹	
	Todos	88	6127,49 (2664,43)	19	5799,47 (3233,87)	0,683 ¹	
Mon /mm ³	NHU	38	360,97 (257,66)	11	280,00 (231,80)	0,147 ²	
	HU	51	251,28 (155,92)	9	236,78 (117,38)	0,959 ²	
	Todos	89	298,11 (211,43)	20	260,55 (185,93)	0,309 ²	
Pla /mm ³	NHU	38	494421,05 (102223,82)	11	527545,45 (135362,75)	0,553 ²	
	HU	51	488941,18 (161984,62)	9	522555,56 (123173,77)	0,557 ¹	
	Todos	89	491280,90 (138958,95)	20	525300,00 (126642,51)	0,317 ¹	
Fe mcg/dL	NHU	34	84,09 (42,49)	8	94,00 (55,88)	0,912 ²	
	HU	46	93,02 (38,77)	8	89,88 (66,05)	0,331 ²	
	Todos	80	89,23 (40,38)	16	91,94 (59,14)	0,599 ²	
Fer µg/L	NHU	34	241,18 (430,73)	8	158,49 (96,26)	0,289 ²	
	HU	47	249,94 (290,21)	8	281,13 (266,43)	0,648 ²	
	Todos	81	246,26 (353,52)	16	219,81 (203,62)	0,361 ²	
BT mg/dL	NHU	25	3,55 (1,65)	10	2,87 (1,19)	0,529 ²	
	HU	31	1,85 (0,92)	6	1,41 (0,39)	0,481 ²	
	Todos	56	2,61 (1,55)	16	2,32 (1,20)	0,725 ²	
BD mg/dL	NHU	25	0,65 (0,16)	10	0,60 (0,20)	0,372 ¹	
	HU	31	0,46 (0,17)	6	0,45 (0,14)	0,808 ¹	
	Todos	56	0,55 (0,19)	16	0,54 (0,19)	0,865 ¹	
BI mg/dL	NHU	25	2,89 (1,60)	10	2,27 (1,21)	0,439 ²	
	HU	31	1,38 (0,81)	6	0,96 (0,36)	0,363 ²	
	Todos	56	2,06 (1,43)	16	1,78 (1,16)	0,626 ²	
LDH U/L	NHU	24	644,33 (193,26)	9	571,67 (180,60)	0,336 ¹	
	HU	31	507,94 (171,38)	6	377,83 (63,76)	0,004¹	1,006
	Todos	55	567,45 (192,06)	16	494,13 (172,48)	0,117 ²	
APOA1 mg/dL	NHU	24	99,83 (10,15)	10	104,40 (15,17)	0,539 ²	
	HU	32	107,25 (12,69)	7	111,00 (11,45)	0,477 ¹	
	Todos	56	104,0714 (12,15)	17	107,12 (13,78)	0,383 ¹	
APOB mg/dL	NHU	24	59,33 (14,70)	10	56,80 (14,88)	0,651 ¹	
	HU	32	70,19 (17,54)	7	68,71 (23,98)	0,852 ¹	
	Todos	56	65,54 (17,12)	17	61,71 (19,41)	0,436 ¹	
LDL mg/dL	NHU	24	61,38 (18,80)	10	63,72 (16,47)	0,401 ²	
	HU	32	76,59 (20,08)	7	72,11 (21,77)	0,601	
	Todos	56	70,07 (20,80)	17	67,18 (18,67)	0,629 ²	
CT mg/dL	NHU	24	117,75 (18,34)	10	117,90 (17,99)	0,897 ²	
	HU	32	133,28 (22,09)	7	128,43 (22,85)	0,604 ¹	
	Todos	56	126,63 (21,82)	17	122,24 (20,16)	0,430 ²	
HDL mg/dL	NHU	24	36,13 (6,56)	10	38,60 (9,97)	0,867 ²	

	HU	32	39,75 (6,08)	7	40,71 (5,53)	0,530 ²
	Todos	56	38,20 (6,49)	17	39,47 (8,28)	0,839 ²
TG mg/dL	NHU	24	101,63 (54,68)	10	77,90 (23,51)	0,341 ²
	HU	32	84,69 (29,89)	7	78,00 (32,69)	0,440 ²
	Todos	56	91,95 (42,73)	17	77,94 (26,68)	0,248 ²
NHDL mg/dL	NHU	24	81,71 (18,50)	10	79,30 (18,16)	0,696 ²
	HU	32	93,50 (23,20)	7	87,71 (26,037)	0,562 ¹
	Todos	56	88,45 (21,94)	17	82,76 (21,40)	0,222 ²

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

As análises de associação combinando a terapia de HU com os grupos de indivíduos com ou sem co-herança de alfa-tal estão apresentadas no Apêndice H (Tabela 56).

Foram realizadas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e co-herança de alfa-tal, podem prever a chance de alteração nos valores de HCM, VCM e LDH (variáveis significativas nas análises de associação) dos indivíduos do estudo. Os resultados apontaram modelo significativo em prever os níveis de HCM $<26,5$ ($p[\chi^2]$ modelo=0,005) onde indivíduos com co-herança de alfa-tal têm 6,6 vezes maior chance de níveis mais baixos de HCM se comparados aos que não apresentam alfa-tal (Estimativa: 1,893; OR: 6,640; IC:1,795-24,56; $p=0,005$). Encontramos um modelo de regressão logística binária significativo para prever níveis de VCM ($p[\chi^2]$ modelo não ajustado=0,049) e uso de HU, entretanto, o resultado da regressão não alcançou significância. Os demais modelos não apresentaram significância para VCM e LDH (Tabela 33).

Tabela 33 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de HCM, VCM e LDH em relação a co-herança de alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	p[χ^2] Modelo não ajustado	OR não ajustada	IC Mín-Máx		p ⁶	p[χ^2] Modelo ajustado	OR ajustada	IC Mín-Máx		p
HCM: < 26,5 pg										
Alfa-tal (sim)	0,005	6,640	1,795	24,560	0,005	0,005	6,640	1,795	24,560	0,005 ⁷
VCM: < 80 fL										
Alfa-tal (sim)	0,875	0,84	0,09	7,593	0,877	0,095	4,335	0,2	92,292	0,347 ⁸
Idade (meses)	0,077	0,984	0,97	1,003	0,096	0,095	0,982	0,96	1,001	0,069 ⁸
Uso HU (sim)	0,049	0,153	0,02	1,351	0,091	0,095	2,423×10 ⁻⁸	0	∞	0,996 ⁸
Sexo (feminino)	0,303	2,426	0,43	13,829	0,318	0,095	6,127	0,51	73,277	0,152 ⁸
Alfa-tal (sim) * Uso HU (sim)						0,095	0,195	0	∞	1,000 ⁸
Alfa-tal (sim) * Sexo (feminino)						0,095	8,159×10 ⁻¹⁰	0	∞	0,997 ⁸
Uso HU (sim) * Sexo (feminino)						0,095	6,539×10 ⁺⁶	0	∞	0,996 ⁸
Alfa-tal (sim) * Uso HU (sim) * Sexo (feminino)						0,095	36,598	0	∞	1,000 ⁸
LDH ≥ 610,00 U/L										
Idade (meses)	0,558	1,004	0,99	1,018	0,559	0,134	1,001	0,99	1,016	0,894 ⁸
Sexo (feminino)	0,104	0,441	0,16	1,202	0,11	0,134	1,149	0,18	7,171	0,882 ⁸
Uso HU (sim)	0,063	0,394	0,15	1,066	0,067	0,134	0,676	0,16	2,844	0,593 ⁸
Alfa-tal (sim)	0,108	0,348	0,09	1,374	0,132	0,134	1,817	0,14	24,523	0,653 ⁸
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,134	0,353	0,03	3,781	0,39 ⁸
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim)						0,134	0,086	0	3,446	0,193 ⁸
Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim)						0,134	1,724×10 ⁻⁸	0	∞	0,994 ⁸
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim)						0,134	28,705	0	∞	0,999 ⁸

Nota: HU: hidroxúria, 6: Regressão logística binária, método Enter, 7: Regressão logística múltipla, método Forward, 8: Regressão logística múltipla, método Enter.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.10 ANÁLISES DO SNP rs11865131 (G/A) DE *NPRL3* COM PARÂMETROS LABORATORIAIS

Quando analisados os genótipos de *NPRL3* para a variante rs11865131 em modelos de codominância foram evidenciadas diferenças nos níveis de Hb ($p=0,001$) e do hematócrito ($p=0,035$). A presença do alelo A no genótipo aumenta os níveis de Hb e hematócrito (Tabela 34 e figuras 22 e 23).

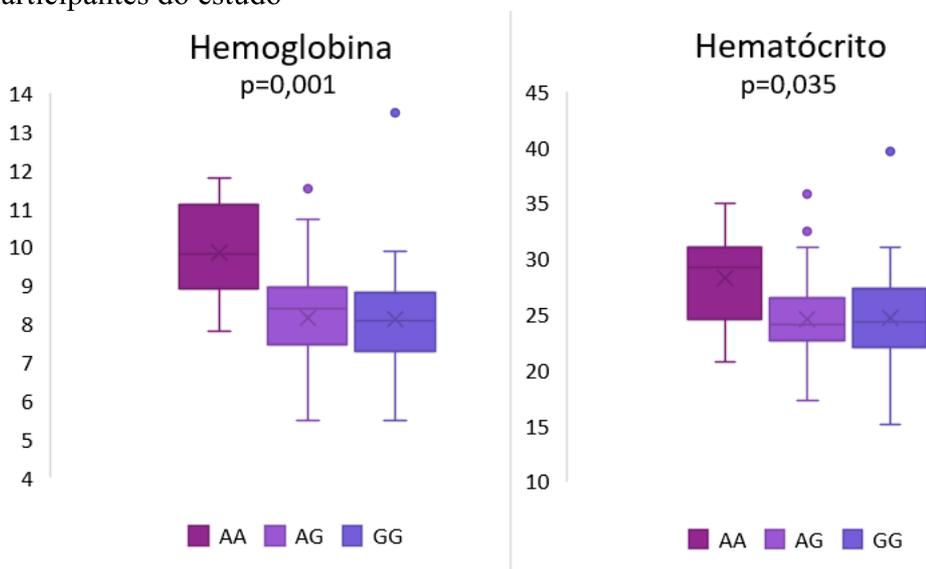
Tabela 34 - Análise dos genótipos da variante rs11865131 do gene *NPRL3* em todos os participantes do estudo

Variáveis	GG			AG			AA			p
	N	Média	dp	N	Média	dp	N	Média	dp	
Hb	52	8,14	1,31	49	8,16	1,26	9	9,84	1,31	0,001³
Ht	52	24,71	4,06	49	24,51	3,83	9	28,23	4,35	0,035³

N: número de indivíduos; dp: desvio padrão; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; 3: ANOVA; 4: KRUSKAL WALLIS.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 22 - Representação gráfica das análises dos genótipos da variante regulatória rs11865131 dos genes *HBA1/HBA2* em relação aos níveis de hematócrito e hemoglobina dos participantes do estudo



Teste ANOVA.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Na análise de modelo genético de dominância, indivíduos sem terapia de HU e de genótipo AG ou AA apresentavam maiores níveis de Hb ($p=0,037$ com efeito moderado) e de APOA1 ($p=0,029$ com efeito moderado). Entre os indivíduos que utilizavam HU e de genótipo AG ou AA maiores níveis de BT ($p=0,042$) e BI ($p=0,020$) foram

encontrados com efeito moderado (Tabela 35). As demais variáveis não mostraram significância com os modelos genéticos. Analisando o efeito da terapia com HU entre os genótipos de rs11865131 (Apendice I, Tabela 57) podemos observar que o benefício do uso da HU no aumento da Hb, Ht, HbF, reticulócitos e nos níveis de lipídios e na redução de marcadores de hemólise, monócitos e LDH, são mais significativos entre os indivíduos com genótipo GG. Os níveis de bilirrubinas são reduzidos em todos os genótipos quando da terapia de HU.

Tabela 35 - Avaliação do efeito de dominância do alelo de menor frequência da variante rs11865131 de *NPRL3* nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais	Grupos	Modelo de dominância de rs11865131				p	d
		GG		AG + AA			
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	NHU	26	7,57 (1,08)	24	8,36 (1,48)	0,034 ¹	0,610
	HU	26	8,71 (1,28)	34	8,47 (1,36)	0,511 ²	
	Todos	52	8,14 (1,31)	58	8,42 (1,40)	0,272 ¹	
Ht %	NHU	26	22,75 (3,32)	24	24,50 (4,30)	0,113 ¹	
	HU	26	26,67 (3,82)	34	25,51 (3,97)	0,257 ²	
	Todos	52	24,71 (4,06)	58	25,09 (4,10)	0,630 ¹	
HCM pg	NHU	26	31,37 (12,74)	24	30,12 (2,96)	0,3032	
	HU	26	32,55 (4,30)	34	33,27 (3,86)	0,5011	
	Todos	52	31,96 (9,44)	58	31,96 (3,82)	0,2502	
VCM fL	NHU	26	88,94 (7,56)	24	89,92 (8,89)	0,6761	
	HU	26	99,88 (12,57)	34	100,07 (9,21)	0,9471	
	Todos	52	94,41 (11,66)	58	95,87 (10,32)	0,4881	
HbF %	NHU	22	9,77 (4,89)	14	10,61 (8,51)	0,713 ²	
	HU	25	17,48 (14,39)	32	12,59 (6,96)	0,204 ²	
	Todos	47	13,87 (11,58)	46	11,99 (7,42)	0,544 ²	
LG /mm ³	NHU	26	12651,12 (4178,90)	23	12982,61 (2371,35)	0,739 ¹	
	HU	26	9462,54 (3025,44)	34	10178,82 (2662,26)	0,334 ¹	
	Todos	52	11056,83 (3954,61)	57	11310,18 (2883,00)	0,701 ¹	
Neu /mm ³	NHU	24	6566,13 (3381,12)	23	7410,57 (2175,34)	0,316 ¹	
	HU	26	5002,58 (2476,62)	34	5626,82 (2484,05)	0,338 ¹	
	Todos	50	5753,08 (3019,62)	57	6346,58 (2504,94)	0,269 ¹	
Mon /mm ³	NHU	26	402,96 (306,25)	23	274,78 (151,43)	0,266 ²	
	HU	26	234,08 (160,16)	34	260,59 (143,10)	0,325 ²	
	Todos	52	318,52 (256,55)	57	266,32 (145,35)	0,884 ²	
Pla /mm ³	NHU	26	500076,92 (97644,22)	23	503869,57 (124443,23)	0,718 ²	
	HU	26	505730,77 (165636,60)	34	485000,00 (150730,54)	0,615 ¹	
	Todos	52	502903,85 (134650,06)	57	492614,04 (139855,12)	0,981 ²	
Ret %	NHU	26	5,81 (2,98)	23	5,09 (4,26)	0,222 ²	

	HU	25	4,00 (2,37)	34	5,21 (3,50)	0,319 ²	
	Todos	51	4,93 (2,82)	57	5,16 (3,79)	0,837 ²	
Fe mcg/dL	NHU	23	98,22 (48,12)	19	71,17 (36,15)	0,056 ²	
	HU	22	92,724 (35,04)	32	92,44 (48,35)	0,509 ²	
	Todos	45	95,53 (41,85)	51	84,51 (45,03)	0,103 ²	
Fer µg/L	NHU	23	178,88 (285,27)	19	281,78 (490,53)	0,622 ²	
	HU	23	333,51 (367,55)	32	197,68 (193,34)	0,361 ²	
	Todos	46	256,19 (334,58)	51	229,01 (333,90)	0,957 ²	
BT mg/dL	NHU	18	3,35 (1,37)	17	3,36 (1,77)	0,424 ²	
	HU	17	1,51 (0,92)	20	2,00 (0,78)	0,042²	0,575
	Todos	35	2,46 (1,48)	37	2,62 (1,48)	0,714 ²	
BD mg/dL	NHU	18	0,62 (0,19)	17	0,65 (0,16)	0,609 ¹	
	HU	17	0,43 (0,16)	20	0,48 (0,17)	0,358 ¹	
	Todos	35	0,531 (0,20)	37	0,56 (,18)	0,494 ¹	
BI mg/dL	NHU	18	2,73 (1,31)	17	2,70 (1,74)	0,443 ²	
	HU	17	1,08 (0,82)	20	1,52 (0,68)	0,020²	0,584
	Todos	35	1,92 (1,37)	37	2,06 (1,40)	0,648 ²	
LDH U/L	NHU	17	646,71 (181,36)	16	600,94 (201,82)	0,326 ²	
	HU	17	444,00 (154,81)	20	523,25 (169,42)	0,149 ¹	
	Todos	34	545,35 (195,32)	36	557,78 (185,93)	0,786 ¹	
APOA1 mg/dL	NHU	17	96,82 (7,67)	17	105,53 (13,70)	0,029¹	0,785
	HU	18	110,00 (11,96)	21	106,14 (12,82)	0,340 ¹	
	Todos	35	103,60 (12,00)	38	105,87 (13,04)	0,443 ¹	
APOB mg/dL	NHU	17	55,41 (13,31)	17	61,76 (15,48)	0,209 ¹	
	HU	18	69,78 (19,80)	21	70,05 (17,79)	0,964 ¹	
	Todos	35	62,80 (18,23)	38	66,34 (17,09)	0,394 ¹	
LDL mg/dL	NHU	17	60,16 (17,40)	17	63,96 (18,78)	0,634 ²	
	HU	18	77,16 (19,64)	21	74,62 (21,01)	0,701 ¹	
	Todos	35		38		0,921 ²	
CT mg/dL	NHU	17	115,65 (16,31)	17	119,94 (19,74)	0,812 ²	
	HU	18	133,78 (21,47)	21	131,24 (22,92)	0,724 ¹	
	Todos	35	124,97 (20,98)	38	126,18 (22,02)	0,974 ²	
HDL mg/dL	NHU	17	35,47 (7,44)	17	38,24 (7,81)	0,274 ²	
	HU	18	40,44 (5,49)	21	39,48 (6,38)	0,380 ²	
	Todos	35	38,03 (6,89)	38	38,92 (6,98)	0,925 ²	
TG mg/dL	NHU	17	100,65 (61,52)	17	88,65 (31,58)	1,000 ²	
	HU	18	81,00 (31,64)	21	85,62 (29,28)	0,652 ²	
	Todos	35	90,54 (48,79)	38	86,97 (29,95)	0,761 ²	
NHDL mg/dL	NHU	17	80,29 (16,74)	17	81,71 (19,97)	0,812 ²	
	HU	18	93,28 (24,21)	21	91,76 (23,42)	0,844 ¹	
	Todos	35	86,97 (21,64)	38	87,26 (22,24)	0,912 ²	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína

de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Na análise de modelo genético de recessividade, indivíduos do genótipo AA para a variante rs11865131 apresentaram aumento dos níveis de Hb ($p < 0,001$, $d = 1,305$) e Ht ($p = 0,010$ e $d = 0,808$) com efeito elevado (Tabela 36).

Tabela 36 - Avaliação do efeito de recessividade do alelo de menor frequência da variante rs11865131 do gene *NPRL3* nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais	Modelo de recessividade de rs11865131				Efeito	
	GG + AG		AA		p	d
	N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	101	8,15 (1,28)	9	9,84 (1,31)	<0,001 ¹	1,305
Ht %	101	24,62 (3,93)	9	28,23 (4,95)	0,010 ¹	0,808
HCM pg	101	31,96 (7,26)	9	31,93 (3,52)	0,723 ²	
VCM fL	101	95,18 (11,00)	9	95,22 (11,02)	0,991 ¹	
HbF %	87	12,84 (9,98)	6	14,43 (5,38)	0,254 ²	
LG /mm ³	100	11309,35 (3407,02)	9	9855,56 (3502,90)	0,224 ¹	
Neu /mm ³	98	6073,63 (2786,37)	9	6021,44 (2608,57)	0,827 ²	
Mon /mm ³	100	285,93 (206,59)	9	350,02 (210,57)	0,298 ²	
Pla /mm ³	100	497260,00 (132870,99)	9	500444,44 (185395,60)	0,947 ¹	
Ret %	99	4,99 (3,33)	9	5,72 (3,73)	0,440 ²	
Fe mcg/dL	87	89,93 (42,00)	9	87,27 (60,83)	0,470 ²	
Fer µg/L	88	257,31 (345,26)	9	91,27 (64,75)	0,084 ²	
BT mg/dL	68	2,58 (1,49)	4	1,86 (0,86)	0,371 ²	
BD mg/dL	68	0,55 (0,19)	4	0,51 (0,25)	0,707 ¹	
BI mg/dL	68	2,03 (1,40)	4	1,35 (0,78)	0,345 ²	
LDH U/L	66	559,71 (191,12)	4	420,25 (89,57)	0,154 ¹	
APOA1 mg/dL	69	104,79 (12,62)	4	104,5 (12,15)	0,964 ¹	
APOB mg/dL	69	63,88 (17,42)	4	77,75 (18,08)	0,127 ¹	
LDL mg/dL	69	69,00 (20,13)	4	76,25 (23,99)	0,535 ²	
CT mg/dL	69	125,03 (21,03)	4	135,50 (28,49)	0,432 ²	
HDL mg/dL	69	38,58 (7,06)	4	37,00 (3,16)	0,861 ²	
TG mg/dL	69	87,38 (40,14)	4	111,25 (29,65)	0,109 ²	
NHDL mg/dL	69	86,46 (21,41)	4	98,50 (28,87)	0,365 ²	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase;

1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Foram realizadas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença do polimorfismo rs11865131 de *NPRL3*, em modelo de dominância conseguem prever a chance de alterar os níveis de BT, BI, APOA1 e Hb (variáveis significativas nas análises de associação, no modelo de dominância) dos indivíduos com AF.

Os resultados apontam modelo significativo ($P[\chi^2]$ Modelo ajustado = 0,032) em prever os níveis de BT quando avaliado por regressão logística binária múltipla, ajustado para terapia com HU e rs11865131 de *NPRL3*, no modelo genético de dominância. Os indivíduos que possuem a variante rara (A) apresentam 5 vezes (403,7%) maior chance de terem níveis aumentados de BT (Estimativa: 1,617; OR:5,037; IC:1,065-23,816; $p=0,041$). Para as demais variáveis do modelo, não foram encontradas significâncias (Tabela 37).

Encontramos modelo não ajustado significativo ($P[\chi^2] < 0,001$) em prever níveis de BI, quando avaliada a terapia com HU. A regressão aponta que os indivíduos em terapia com HU possuem 92% de chance de apresentarem BI reduzida, em comparação aos que não estão em terapia (Estimativa: -2,531; OR:0,08; IC:0,017-0,382; $p= 0,002$) (Tabela 37). Ainda avaliando a BI, um modelo de regressão logística binária múltipla ajustado para terapia com HU e polimorfismo rs11865131 de *NPRL3*, no modelo de dominância, apresentou-se significativo ($P[\chi^2]$ modelo ajustado=0,026). Os indivíduos em terapia com HU têm risco menor de ter BI >0,9, ou seja, proteção de 93,8% para maiores níveis de BI (Estimativa: -2,782; OR: 0,062; IC:0,012-0,319; $p<0,001$). Para aqueles que possuem o alelo A de rs11865131 de *NPRL3*, no modelo de dominância, aumenta em 4 vezes (aproximadamente 305%) a chance de BI alto (Estimativa: 1,399; OR:4,052; IC:1,121-14,649; $p=0,033$), (Tabela 37).

As análises por regressão logística binária também trouxeram resultado significativo ($P[\chi^2]$ modelo não ajustado= 0,017) quando avaliado como desfecho os níveis de APOA1 em relação a terapia com HU, demonstrando proteção para níveis reduzidos de APOA1 (78,2% de chance) nos indivíduos sem terapia em comparação aos que fazem o tratamento com HU (Estimativa: -1,524; OR: 0,218; IC:0,056-0,854; $p=0,029$). Para os demais modelos de regressão logística binária ou binária múltipla não foram encontradas significâncias estatísticas para APOA1, assim como não encontramos modelos significativos para Hb (Tabela 37).

Tabela 37 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de bilirrubina total (BT), bilirrubina indireta (BI), Apolipoproteína A1 (APOA1) e hemoglobina (Hb) quanto a presença de polimorfismo rs11865131 de *NPRL3*, ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	P[χ^2] Modelo não ajustado	OR não ajustada	IC Mín-Máx		P ⁶	P[χ^2] Modelo ajustado	OR ajustada	IC Mín-Máx		p
Bilirrubina Total: $\geq 1,2$ mg/dL										
Uso HU (sim)	<0,001	7,519×10 ⁻⁹	0	∞	0,992	0,032	2,357×10 ⁻⁹	0	∞	0,994 ⁷
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,078	3,358	0,812	13,890	0,094	0,032	5,037	1,065	23,816	0,041 ⁷
Bilirrubina Indireta: $\geq 0,9$ mg/dL										
Uso HU (sim)	< 0,001	0,08	0,017	0,382	0,002	0,026	0,062	0,012	0,319	< 0,001 ⁷
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,075	2,696	0,881	8,250	0,082	0,026	4,052	1,121	14,649	0,033 ⁷
APOA1: <115 mg/dL										
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,2	0,467	0,142	1,535	0,21	0,04	1,095	0	∞	1,000 ⁸
Idade (meses)	0,457	1,006	0,99	1,023	0,461	0,04	1,006	0,988	1,025	0,497 ⁸
Sexo (feminino)	0,197	0,471	0,148	1,498	0,202	0,04	0,968	0	∞	1,000 ⁸
Uso HU (sim)	0,017	0,218	0,056	0,854	0,029	0,04	1,039×10 ⁻⁸	0	∞	0,995 ⁸
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Sexo (feminino)						0,04	4,712×10 ⁻⁹	0	∞	0,998 ⁸
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Uso HU (sim)						0,04	0,533	0	∞	1,000 ⁸

Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,04	0,785	0	∞	1,000 ⁸
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,04	$3,562 \times 10^{+8}$	0	∞	0,998 ⁸
Hemoglobina: ≤ 11 mg/dL										
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,351	0,359	0,036	3,567	0,382	0,33	1,026	0	∞	1,000 ⁸
Idade (meses)	0,559	0,994	0,974	1,014	0,561	0,33	0,996	0,975	1,017	0,705 ⁸
Sexo (feminino)	0,882	0,86	0,117	6,332	0,882	0,33	1,003	0	∞	1,000 ⁸
Uso HU (sim)	0,853	1,208	0,164	8,901	0,853	0,33	$5,400 \times 10^{-9}$	0	∞	0,998 ⁸
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Sexo (feminino)						0,33	$2,026 \times 10^{-9}$	0	∞	0,999 ⁸
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Uso HU (sim)						0,33	1,377	0	∞	1,000 ⁸
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,33	$1,876 \times 10^{+8}$	0	∞	0,999 ⁸
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Sexo (feminino) * Uso HU (sim)						0,33	$3,460 \times 10^{+8}$	0	∞	0,999 ⁸

Nota: HU: hidroxúria; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo; \leq : menor ou igual; \geq : maior ou igual; 6: Regressão logística binária, método Enter, 7: Regressão logística múltipla, método Forward, 8: Regressão logística múltipla, método Enter.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) foram realizadas para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU e a presença do polimorfismo rs11865131 de *NPRL3*, em modelo de recessividade, predizem a chance de alteração nos níveis de Hb e Ht (variável significativa nas análises de associação, no modelo de recessividade) dos indivíduos com AF. Encontramos modelo de regressão logística binária significativo para níveis Hb ($P[\chi^2]$ modelo não ajustado =0,026). O genótipo AA foi associado a maior proteção (92,9%) para baixos níveis de Hb ≤ 11 mg/dl (Estimativa: -2,649; OR:0,071; IC:0,009-0,58; $p=0,014$). Para hematócrito nenhum modelo foi significativo (Tabela 38).

Tabela 38 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de hemoglobina no modelo genético de recessividade para o rs11865131 ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	$P[\chi^2]$ Modelo não ajustado	OR não ajustada	IC Mín-Máx		p^6	$P[\chi^2]$ Modelo ajustado	OR ajustada	IC Mín-Máx		p
Hemoglobina: ≤ 11 mg/dL										
Recessividade <i>NPRL3</i> rs11865131 (AA)	0,023⁶	0,071	0,009	0,58	0,014 ⁷	0,023	0,071	0,009	0,58	0,014⁷
Hematócrito: ≤ 35 %										
Recessividade <i>NPRL3</i> rs11865131 (AA)	0,557	$6,351 \times 10_{+6}$	0	∞	0,997	0,924	1,025	0	∞	1,000 ⁸
Idade (meses)	0,996	1,000	0,972	1,028	0,996	0,924	1,000	0,973	1,027	0,977 ⁸
Uso HU (sim)	0,897	1,204	0,073	19,745	0,896	0,924	$1,204 \times 10^{-8}$	0	∞	0,998 ⁸
Sexo (feminino)	0,917	0,862	0,053	14,136	0,917	0,924	$9,084 \times 10^{-9}$	0	∞	0,997 ⁸
Recessividade <i>NPRL3</i> rs11865131 (AA)* Uso HU (sim)						0,924	$8,311 \times 10_{+7}$	0	∞	0,999 ⁸
Recessividade <i>NPRL3</i> rs11865131 (AA)* Sexo (feminino)						0,924	$1,064 \times 10_{+8}$	0	∞	1,000 ⁸
Uso HU (sim) * Sexo (feminino)						0,924	$9,144 \times 10_{+15}$	0	∞	0,996 ⁸
Recessividade <i>NPRL3</i> rs11865131 (AA) * Uso HU (sim) * Sexo (feminino)						0,924	$1,128 \times 10_{-16}$	0	∞	0,999 ⁸

Nota: HU: hidroxuréia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo; \leq : menor ou igual; \geq : maior ou igual; 6: Regressão logística binária, método Enter, 7: Regressão logística múltipla, método Forward, 8: Regressão logística múltipla, método Enter.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.11 INTERAÇÃO DA CO-HERANÇA DE ALFA-TAL E PRESENÇA DO SNP rs11865131 DE *NPRL3*

Avaliamos a interação da co-herança de alfa-tal e dos genótipos de rs11865131. Os participantes sem co-herança de alfa-tal, com qualquer dos genótipos de rs11865131, no modelo de dominância, não alcançaram significância nas variáveis analisadas (Tabela 39).

Tabela 39 - Análise do efeito dos genótipos do polimorfismo rs11865131 do gene *NPRL3* na ausência de alfa-tal no modelo de dominância sobre os parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais		Sem alfa-tal e modelo de dominância de rs11865131				p	Efeito d
		GG		AG + AA			
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	NHU	19	7,63 (1,17)	19	8,31 (1,64)	0,150 ¹	
	HU	21	8,82 (1,36)	30	8,41 (1,43)	0,271 ²	
	Todos	40	8,26 (1,39)	49	8,37 (1,50)	0,817 ²	
Ht (%)	NHU	19	22,68 (3,54)	19	24,27 (4,73)	0,250 ¹	
	HU	21	26,92 (3,97)	30	25,27 (4,03)	0,154 ²	
	Todos	40	24,91 (4,30)	49	24,88 (4,30)	0,978 ¹	
HCM pg	NHU	19	33,08 (14,61)	19	30,58 (3,15)	0,686 ²	
	HU	21	33,34 (4,23)	30	33,72 (3,77)	0,734 ¹	
	Todos	40	33,22 (10,37)	49	32,50 (3,83)	0,580 ²	
VCM fL	NHU	19	91,17 (7,51)	19	91,47 (9,32)	0,751 ²	
	HU	21	102,05 (12,75)	30	101,35 (8,72)	0,817 ¹	
	Todos	40	96,88 (11,82)	49	97,52 (10,11)	0,784 ¹	
Ret %	NHU	19	33,08 (14,61)	19	5,35 (4,43)	0,130 ²	
	HU	20	3,90 (2,17)	30	5,41 (3,63)	0,219 ²	
	Todos	39	5,19 (2,91)	49	5,39 (3,92)	0,834 ²	
HbF %	NHU	17	10,20 (5,28)	13	10,01 (8,55)	0,483 ²	
	HU	20	18,55 (15,71)	28	12,86 (7,29)	0,210 ²	
	Todos	37	14,71 (12,67)	41	11,95 (7,72)	0,373 ²	
LG /mm ³	NHU	19	13335,84 (4408,01)	19	12763,16 (2448,86)	0,624 ¹	
	HU	21	9344,10 (2947,45)	30	10219,33 (2812,69)	0,289 ¹	
	Todos	40	11240,18 (4183,12)	49	11205,71 (2932,03)	0,964 ¹	
Neu /mm ³	NHU	19	33,08 (14,61)	19	7234,21 (2078,78)	0,916 ¹	
	HU	21	4738,29 (2284,75)	30	5789,13 (2591,10)	0,141 ¹	
	Todos	39	5848,59 (2881,00)	49	6349,47 (2486,53)	0,384 ¹	
Mon /mm ³	NHU	19	33,08 (14,61)	19	273,05 (142,96)	0,109 ²	
	HU	21	245,19 (174,59)	30	255,54 (144,39)	0,534 ²	
	Todos	40	341,95 (268,82)	49	262,33 (142,60)	0,468 ²	

Pla /mm ³	NHU	19	33,08 (14,61)	19	482894,74 (104068,83)	0,908 ²
	HU	21	508761,90 (172805,93)	30	475066,67 (155440,18)	0,470 ¹
	Todos	40	507425,00 (141780,06)	49	478102,04 (136652,43)	0,650 ²
Fe mcg/dL	NHU	17	94,04 (46,27)	17	74,15 (37,05)	0,176 ¹
	HU	17	99,88 (33,55)	29	89,00 (41,56)	0,158 ²
	Todos	34	96,96 (39,91)	46	83,51 (40,19)	0,076 ²
Fer µg/L	NHU	17	186,39 (329,59)	17	295,97 (517,35)	0,433 ²
	HU	18	356,42 (394,86)	29	183,85 (178,59)	0,274 ²
	Todos	35	273,84 (369,47)	46	225,29 (343,52)	0,913 ²
BT mg/dL	NHU	12	3,78 (1,42)	13	3,34 (1,87)	0,087 ²
	HU	14	1,59 (0,99)	17	2,06 (0,83)	0,109 ²
	Todos	26	2,60 (1,62)	30	2,61 (1,50)	0,967 ²
BD mg/dL	NHU	12	0,62 (0,16)	13	0,69 (0,16)	0,318 ¹
	HU	14	0,43 (0,15)	17	0,49 (0,18)	0,338 ¹
	Todos	26	0,52 (0,18)	30	0,58 (0,19)	0,268 ¹
BI mg/dL	NHU	12	3,16 (1,33)	13	2,65 (1,84)	0,077 ²
	HU	14	1,56 (0,88)	17	1,57 (0,72)	0,077 ²
	Todos	26	2,08 (1,49)	30	2,04 (1,41)	0,921 ²
LDH U/L	NHU	12	659,50 (160,44)	12	629,17 (227,71)	0,710 ¹
	HU	14	463,29 (162,39)	17	544,71 (174,54)	0,193 ¹
	Todos	26	553,85 (187,05)	29	579,66 (198,93)	0,623 ¹
APOA1 mg/dL	NHU	12	96,58 (7,69)	12	103,08 (11,55)	0,121 ¹
	HU	15	110,67 (12,51)	17	104,23 (12,44)	0,156 ¹
	Todos	27	104,41 (12,66)	29	103,76 (11,88)	0,844 ¹
APOB mg/dL	NHU	12	54,83 (12,19)	12	63,83 (16,11)	0,137 ¹
	HU	15	68,27 (18,63)	17	71,88 (16,90)	0,569 ¹
	Todos	27	62,30 (17,20)	29	68,55 (16,77)	0,174 ¹
LDL mg/dL	NHU	12	57,90 (16,48)	12	64,85 (21,00)	0,443 ²
	HU	15	75,77 (18,69)	17	77,32 (21,78)	0,832 ¹
	Todos	27	67,83 (19,62)	29	72,16	0,517 ²
CT mg/dL	NHU	12	114,50 (15,35)	12	121,00 (21,09)	0,551 ²
	HU	15	131,93 (21,27)	17	134,47 (23,38)	0,752 ¹
	Todos	27	124,19 (20,52)	29	128,90	0,538 ²
HDL mg/dL	NHU	12	35,17 (7,88)	12	37,08 (5,07)	0,486 ¹
	HU	15	40,73 (5,28)	17	38,88 (6,74)	0,165 ²
	Todos	27	38,26 (7,02)	29	38,14 (6,08)	0,548 ²
TG mg/dL	NHU	12	108,00 (71,53)	12	95,25 (32,36)	0,755 ²
	HU	15	77,27 (29,15)	17	91,24 (29,84)	0,216 ²
	Todos	27	90,93 (53,52)	29	92,90	0,234 ²
NHDL mg/dL	NHU	12	79,50 (14,96)	12	83,92 (21,94)	0,932 ²
	HU	15	91,13 (23,20)	17	95,59 (23,72)	0,596 ¹
	Todos	27	85,96 (20,47)	29	90,76	0,560 ²

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM:

volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Por outro lado, todos os participantes do estudo e aqueles do grupo NHU, com co-herança de alfa-tal e o alelo A-rs11865131 do gene *NPRL3*, no modelo de dominância, mostraram maiores níveis de hemoglobina (Tabela 40). Portanto, mesmo com a redução significativa do n amostral (apenas 21 participantes) nós observamos que alelo A-rs11865131 associa a níveis maiores de Hb nos indivíduos AF com co-herança de alfa-tal e não modifica os parâmetros de VCM e HCM, diferentemente do que é observado no grupo sem alfa-tal.

Não foi possível realizar análise estatística no modelo de recessividade devido ao tamanho amostral de indivíduos com alfa-tal e genótipo AA.

Tabela 40 - Interação da co-herança de alfa-tal e polimorfismo rs11865131 do gene *NPRL3* no modelo de efeito de dominância nos parâmetros laboratoriais

Parâmetros laboratoriais		Co-herança de alfa-tal e genótipos de rs11865131 no modelo de dominância				p	Efeito d
		GG		AG + AA			
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	NHU	7	7,39 (0,82)	5	8,54 (0,60)	0,024¹	1,601
	HU	5	8,22 (0,86)	4	8,93 (0,45)	0,184 ¹	
	Todos	12	7,73 (0,90)	9	8,71 (0,55)	0,010¹	
Ht (%)	NHU	7	22,94 (2,87)	5	25,38 (2,05)	0,136 ¹	
	HU	5	25,64 (3,26)	4	27,28 (3,42)	0,488 ¹	
	Todos	12	24,07 (3,21)	9	26,22 (2,73)	0,114 ¹	
HCM pg	NHU	7	26,74 (1,60)	5	28,36 (0,93)	0,072 ¹	
	HU	5	29,24 (3,03)	4	29,83 (2,99)	0,905 ²	
	Todos	12	27,78 (2,53)	9	29,01 (2,10)	0,247 ²	
VCM fL	NHU	7	82,89 (10,16)	5	84,00 (2,74)	0,542 ¹	
	HU	5	90,80 (6,91)	4	90,50 (7,72)	0,953 ¹	
	Todos	12	86,18 (6,28)	9	86,89 (6,15)	0,800 ¹	
HbF %	NHU	5	8,32 (3,26)	1	---	0,333 ²	
	HU	5	13,20 (6,52)	4	10,73 (4,10)	0,532 ¹	
	Todos	10	10,76 (5,50)	5	12,26 (4,94)	0,606 ¹	
LG /mm ³	NHU	7	10792,57 (2992,88)	4	14025,00 (1871,50)	0,086 ¹	
	HU	5	9960,00 (3658,96)	4	9875,00 (1161,54)	1,000 ²	
	Todos	12	10445,67 (3152,46)	8	11950,00 (2645,75)	0,281 ¹	
Neu /mm ³	NHU	6	4832,67 (4098,39)	4	8248,25 (2764,36)	0,186 ¹	
	HU	5	6112,60 (3213,72)	4	4409,50 (858,05)	0,342 ¹	

	Todos	11	5414,45 (3602,28)	8	6328,88 (2793,00)	0,558 ¹	
Mon /mm ³	NHU	7	278,29 (258,51)	4	283,00 (213,17)	1,000 ²	
	HU	5	187,40 (67,39)	4	298,50 (146,78)	0,286 ²	
	Todos	12	240,42 (200,73)	8	290,75 (169,64)	0,473 ²	
Pla /mm ³	NHU	7	484142,86 (90630,07)	4	603500,00 (180448,52)	0,170 ¹	
	HU	5	493000,00 (148025,34)	4	559500,00 (89258,05)	0,458 ¹	
	Todos	12	487833,33 (111664,13)	8	581500,00 (133875,21)	0,107 ¹	
Ret %	NHU	7	3,83 (1,76)	4	3,88 (3,59)	0,977 ¹	
	HU	5	4,42 (3,32)	4	3,70 (1,98)	0,725 ¹	
	Todos	12	4,08 (2,41)	8	3,79 (2,69)	0,805 ¹	
Fe mcg/dL	NHU	6	110,07 (55,76)	2	45,82 (11,05)	0,143 ²	
	HU	5	68,40 (31,42)	3	125,67 (101,10)	0,432 ¹	
	Todos	11	91,13 (49,22)	5	93,73 (83,99)	0,661 ²	
Fer µg/L	NHU	6	157,59 (98,56)	2	161,20 (127,56)	1,000 ²	
	HU	5	251,00 (263,68)	3	331,33 (321,46)	0,712 ¹	
	Todos	11	200,047 (187,21)	5	263,28 (253,81)	0,661 ²	
BT mg/dL	NHU	6	2,49 (0,75)	4	3,43 (1,61)	0,245 ¹	
	HU	3	1,15 (0,33)	3	1,66 (0,27)	0,103 ¹	
	Todos	9	2,04 (0,91)	7	2,67 (1,49)	0,315 ¹	
BD mg/dL	NHU	6	0,63 (0,25)	4	0,55 (0,09)	0,557 ¹	
	HU	3	0,45 (0,21)	3	0,45 (0,05)	1,000 ²	
	Todos	9	0,57 (0,24)	7	0,50 (0,09)	0,521 ¹	
BI mg/dL	NHU	6	1,86 (0,80)	4	2,88 (1,58)	0,210 ¹	
	HU	3	0,70 (0,14)	3	1,22 (0,32)	0,060 ¹	
	Todos	9	1,48 (0,86)	7	2,17 (1,44)	0,251 ¹	
LDH U/L	NHU	5	616,00 (243,13)	4	516,25 (28,04)	0,413 ¹	
	HU	3	354,00 (74,75)	3	401,67 (53,59)	0,420 ¹	
	Todos	8	517,75 (231,87)	7	467,14 (71,43)	0,590 ¹	
APOA1 mg/dL	NHU	5	97,40 (8,50)	5	111,40 (17,98)	0,222 ²	
	HU	3	106,67 (10,02)	4	114,25 (12,74)	0,436 ¹	
	Todos	8	100,88 (9,64)	9	112,67 (14,99)	0,077 ¹	
APOB mg/dL	NHU	5	56,80 (17,22)	5	56,80 (14,18)	1,000 ¹	
	HU	3	77,33 (28,29)	4	62,25 (22,05)	0,461 ¹	
	Todos	8	64,50 (22,61)	9	59,22 (17,06)	0,592 ¹	
LDL mg/dL	NHU	5	65,60 (20,29)	5	61,84 (13,77)	0,841 ²	
	HU	3	84,07 (27,37)	4	63,15 (14,08)	0,238 ¹	
	Todos	8	72,53 (23,25)	9	62,42 (13,02)	0,481 ²	
CT mg/dL	NHU	5	118,40 (20,07)	5	117,40 (18,02)	0,936 ¹	
	HU	3	143,00 (24,43)	4	117,50 (16,58)	0,158 ¹	
	Todos	8	127,63 (23,72)	9	117,44 (16,30)	0,314 ¹	
HDL mg/dL	NHU	5	36,20 (7,05)	5	41,00 (12,63)	0,421 ²	
	HU	3	39,00 (7,55)	4	42,00 (4,24)	0,528 ¹	

	Todos	8	37,25 (6,84)	9	41,44 (9,32)	0,312 ¹	
TG mg/dL	NHU	5	83,00 (22,66)	5	72,80 (25,78)	0,525 ¹	
	HU	3	99,67 (43,98)	4	61,75 (5,12)	0,273 ¹	
	Todos	8	89,25 (30,34)	9	67,89 (19,39)	0,100 ¹	
NHDL mg/dL	NHU	5	82,20 (22,33)	5	76,40 (14,91)	0,690 ²	
	HU	3	104,00 (31,75)	4	75,50 (14,82)	0,168 ¹	
	Todos	8	90,38 (26,46)	9	76,00 (13,92)	0,321 ²	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Não houve modelos significativos nas análises de regressão logística binária (método Enter) e binária múltipla (métodos Enter e Forward) para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU, a presença do polimorfismo rs11865131 de *NPRL3*, em modelo de dominância, e co-herança de alfa-tal poderiam prever a chance de alteração nos níveis de Hb (variável significativa nas análises de associação) dos indivíduos com AF (Tabela 41).

Tabela 41 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de Hemoglobina (Hb) no modelo genético de dominância para o rs11865131 *NPRL3* e alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	P[χ^2] Modelo	OR	IC Mín-Máx	p
Hb: ≤ 11 mg/dL Regressão logística binária - método Enter				
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,351	0,359	0,036 3,567	0,382
Idade (meses)	0,559	0,994	0,974 1,014	0,561
Uso HU (sim)	0,853	1,208	0,164 8,901	0,853
Alfa-tal	0,188	$1,479 \times 10^{+7}$	0 ∞	0,994
Sexo (feminino)	0,882	0,86	0,117 6,332	0,882
Hb: ≤ 11 mg/dL Regressão logística binária múltipla - método Enter				
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,789	0,998	0 ∞	1,000
Idade (meses)	0,789	0,999	0,979 1,020	0,943
Uso HU (sim)	0,789	$4,276 \times 10^{-9}$	0 ∞	0,998
Alfa-tal	0,789	0,973	0 ∞	1,000
Sexo (feminino)	0,789	0,999	0 ∞	1,000
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Uso HU (sim)	0,789	1,414	0 ∞	1,000
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Alfa-tal	0,789	1,020	0 ∞	1,000
Uso HU (sim) * Alfa-tal	0,789	$2,322 \times 10^{+8}$	0 ∞	0,999

Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Sexo (feminino)	0,789	$1,314 \times 10^{-9}$	0	∞	0,999
Uso HU (sim) * Sexo (feminino)	0,789	$2,333 \times 10^{+8}$	0	∞	0,999
Alfa-tal * Sexo (feminino)	0,789	1,010	0	∞	1,000
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Uso HU (sim) * Alfa-tal	0,789	0,712	0	∞	1,000
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Uso HU (sim) * Sexo (feminino)	0,789	$5,399 \times 10^{+8}$	0	∞	0,999
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Alfa-tal * Sexo (feminino)	0,789	$7,535 \times 10^{+8}$	0	∞	1,000
Uso HU (sim) * Alfa-tal * Sexo (feminino)	0,789	$4,420 \times 10^{-9}$	0	∞	1,000
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA) * Uso HU (sim) * Alfa-tal * Sexo (feminino)	0,789	$1,738 \times 10^{-9}$	0	∞	1,000

Nota: HU: hidroxuréia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Realizamos análises de regressão para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU, a presença do polimorfismo rs11865131 de *NPRL3*, em modelo de dominância, e co-herança de alfa-tal podem predizer a chance de alteração nos níveis de hematócrito, bilirrubinas total e indireta e APOA1. Apesar desses parâmetros não terem apresentado significância nas análises de associação, houve significância nas análises de associação do polimorfismo rs11865131 de *NPRL3* e a co-herança de alfa-tal. Entretanto, não encontramos nenhum resultado significativo para a interação, apenas confirmamos a significância dos resultados da análise do polimorfismo rs11865131 de *NPRL3* sem levar em consideração a co-herança de alfa-tal, uma vez que o método Forward apresentou modelos significativos que excluía a alfa-tal como preditora dos desfechos (Tabelas 42, 43, 44 e 45).

Tabela 42 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de hematócrito (Ht) no modelo genético de dominância para o rs11865131 *NPRL3* e alfa-talassemia ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	$P[\chi^2]$ Modelo	OR	IC Mín-Máx	p	
Hematócrito < 35 %					
Regressão Logística Binária método Enter					
Idade (meses)	0,996	1,000	0,972	1,028	0,996
Sexo (feminino)	0,917	0,862	0,053	14,136	0,917
HU (sim)	0,897	1,204	0,073	19,745	0,896
Alfa-tal (sim)	0,355	$1,964 \times 10^{+7}$	0	∞	0,997

Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,938	1,118	0,068	18,326	0,938
Hematócrito < 35 %	Regressão Logística Binária Múltipla método Enter				
Idade (meses)	0,965	1,005	0,974	1,037	0,745
Sexo (feminino)	0,965	1,041	0	∞	1,000
HU (sim)	0,965	1,672×10 ⁻⁹	0	∞	0,999
Alfa-tal (sim)	0,965	1,207	0	∞	1,000
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,965	1,039	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * HU (sim)	0,965	5,869×10 ⁺⁸	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim)	0,965	0,908	0	∞	1,000
Uso HU (sim)* Alfa-tal (sim)	0,965	6,190×10 ⁺⁸	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,965	9,359×10 ⁻¹⁰	0	∞	0,999
Uso HU (sim)* Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,965	5,864×10 ⁺⁸	0	∞	0,999
Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,965	0,839	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)* Alfa-tal (sim)	0,965	1,377×10 ⁻⁹	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)* Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,965	1,755	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,965	1,148×10 ⁺⁹	0	∞	1,000
Uso HU (sim)* Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,965	1,648×10 ⁻⁹	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)* Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,965	0,882	0	∞	1,000

Nota: HU: hidroxuréia; p[χ^2]: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 43 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de bilirrubina total (BT) no modelo genético de dominância para o rs11865131 *NPRL3* e alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	P[χ^2] Modelo	OR	IC Mín-Máx	p	
BT ≥1,2 mg/dL	Regressão Logística Binária método Enter				
Idade (meses)	0,128	1,014	0,995	1,033	0,143
Sexo (feminino)	0,978	1,018	0,281	3,696	0,978
HU (sim)	< 0,001	7,519×10 ⁻⁹	0	∞	0,992
Alfa-tal (sim)	0,217	3,261	0,385	27,622	0,278
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,078	0,094	0,812	13,890	0,094
BT ≥ 1,2 mg/dL	Regressão Logística Binária Múltipla método Enter				

idade (meses)	0,041	1,018	0,99	1,047	0,207
HU (sim)	0,041	$7,536 \times 10^{-10}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino)	0,041	0,577	0	∞	1,000
Alfa-tal (sim)	0,041	2,344	0	∞	1,000
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,041	1,260	0	∞	1,000
HU (sim) * Sexo (feminino)	0,041	5,689	0	∞	1,000
HU (sim) * Alfa-tal (sim)	0,041	$9,193 \times 10^{-8}$	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim)	0,041	0,953	0	∞	1,000
HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,041	4,967	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,041	1,003	0	∞	1,000
Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,041	0,647	0	∞	1,000
HU (sim) * Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim)	0,041	$2,083 \times 10^{-10}$	0	∞	0,999
HU (sim) * Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,041	0,645	0	∞	1,000
HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,041	0,165	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,041	1,373	0	∞	1,000
HU (sim) * Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,041	$4,699 \times 10^{-9}$	0	∞	1,000
BT $\geq 1,2$ mg/dL	Regressão Logística Binária Múltipla método Forward				
HU (sim)	0,032	$2,357 \times 10^{-9}$	0	∞	0,994
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,032	5,037	1,065	23,816	0,041

Nota: HU: hidroxuréia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 44 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de bilirrubina indireta (BI) no modelo genético de dominância para o rs11865131 *NPRL3* e alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	$P[\chi^2]$ Modelo	OR	IC Mín-Máx		p
BI $\geq 0,9$ mg/dL	Regressão Logística Binária				
Idade (meses)	0,070	1,014	0,998	1,029	0,081
Sexo (feminino)	0,340	0,594	0,203	1,739	0,341
HU (sim)	< 0,001	0,08	0,017	0,382	0,002
Alfa-tal (sim)	0,520	0,665	0,195	2,266	0,514
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,075	2,696	0,881	8,250	0,082
BI $\geq 0,9$ mg/dL	Regressão Logística Binária Múltipla método Enter				

Idade (meses)	0,433	1,012	0,991	1,033	0,284
Sexo (feminino)	0,433	0,718	0	∞	1,000
HU (sim)	0,433	1,946×10 ⁻⁹	0	∞	0,995
Alfa-tal (sim)	0,433	1,697	0	∞	1,000
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,433	2,514×10 ⁻⁸	0	∞	0,996
Sexo (feminino) * HU (sim)	0,433	2,649	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim)	0,433	5,974×10 ⁻⁹	0	∞	0,999
HU (sim) * Alfa-tal (sim)	0,433	4,311×10 ⁻⁹	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,433	4,433×10 ⁺⁷	0	∞	0,999
HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,433	2,371×10 ⁺⁸	0	∞	0,995
Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,433	3,657×10 ⁺⁷	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * HU (sim) * Alfa-tal (sim)	0,433	5,985×10 ⁺⁷	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,433	1,179×10 ⁻⁸	0	∞	0,998
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,433	4,296	0	∞	1,000
HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,433	3,502×10 ⁺⁸	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,433	1,254×10 ⁻¹⁷	0	∞	0,999
BI ≥ 0,9 mg/dL	Regressão Logística Binária Múltipla método Forward				
HU (sim)	0,026	0,062	0,012	0,319	< 0,001
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,026	4,052	1,121	14,649	0,033

Nota: HU: hidroxúria; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 45 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de Apolipoproteína A1 (APOA1) no modelo genético de dominância para o rs11865131 e alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	$P[\chi^2]$ Modelo	OR	IC Mín-Máx		p
APOA1 < 115 mg/dL	Regressão Logística Binária método Enter				
Idade (meses)	0,457	1,006	0,99	1,023	0,461
Sexo (feminino)	0,197	0,471	0,148	1,498	0,202
HU (sim)	0,017	0,218	0,056	0,854	0,029
Alfa-tal (sim)	0,731	0,794	0,216	2,916	0,729
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,200	0,467	0,142	1,535	0,210
APOA1 < 115 mg/dL	Regressão Logística Binária Múltipla método Enter				
Idade (meses)	0,232	1,005	0,985	1,025	0,633

Sexo (feminino)	0,232	0,875	0	∞	1,000
HU (sim)	0,232	$8,526 \times 10^{-9}$	0	∞	0,996
Alfa-tal (sim)	0,232	1,097	0	∞	1,000
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,232	1,086	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * HU (sim)	0,232	1,387	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim)	0,232	1,114	0	∞	1,000
HU (sim) * Alfa-tal (sim)	0,232	$1,250 \times 10^{+8}$	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,232	$4,494 \times 10^{-9}$	0	∞	0,998
HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,232	0,619	0	∞	1,000
Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,232	0,92	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * HU (sim) * Alfa-tal (sim)	0,232	$2,007 \times 10^{-9}$	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,232	$3,624 \times 10^{+8}$	0	∞	0,998
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,232	1,467	0	∞	1,000
HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,232	$9,640 \times 10^{-9}$	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,232	0,307	0	∞	1,000

Nota: HU: hidroxúria; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Do mesmo modo, também realizamos análises de regressão para avaliar se a idade, o sexo, a terapia HU, a presença do polimorfismo rs11865131 de *NPRL3*, em modelo de dominância e co-herança de alfa-tal podem prever a chance de alteração nos níveis de HCM, VCM e LDH, que apesar de não terem apresentado significância nas análises de associação, apresentaram significância nas análises de associação para co-herança de alfa-tal sem levar em consideração a presença do polimorfismo rs11865131 de *NPRL3*. Não encontramos nenhum resultado significativo para a interação, apenas confirmamos a significância dos resultados da análise para co-herança de alfa-tal e HCM uma vez que o método Forward apresentou modelo significativo que excluía o polimorfismo rs11865131 de *NPRL3* como preditora dos níveis de HCM (Tabelas 46, 47 e 48).

Tabela 46 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de HCM no modelo genético de dominância para o rs11865131 e alfa-talassemia ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	P[χ^2] Modelo	OR	IC Mín-Máx		p
HCM < 26,5 pg					
Regressão Logística Binária método Enter					
Idade (meses)	0,049	0,987	0,973	1,001	0,061
Sexo (feminino)	0,587	1,413	0,404	4,941	0,588
Uso HU (sim)	0,049	0,27	0,067	1,079	0,064
Alfa-tal (sim)	0,005	6,640	1,795	24,560	0,005
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,066	0,293	0,073	1,172	0,083
HCM < 26,5 pg					
Regressão Logística Binária Múltipla método Enter					
Idade (meses)	0,034	0,99	0,974	1,007	0,250
Sexo (feminino)	0,034	1,169	0,058	23,623	0,919
Uso HU (sim)	0,034	$9,691 \times 10^{-9}$	0	∞	0,997
Alfa-tal (sim)	0,034	14,032	0,561	351,301	0,108
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,034	0,818	0,042	15,812	0,894
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,034	$8,733 \times 10^{+7}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim)	0,034	0,467	0,006	36,868	0,733
Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim)	0,034	$2,285 \times 10^{+7}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,034	1,619	0,022	120,548	0,827
Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,034	1,273	0	∞	1,000
Deleção Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,034	$8,704 \times 10^{-10}$	0	∞	0,999
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim)	0,034	$8,184 \times 10^{-17}$	0	∞	0,998
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,034	$6,190 \times 10^{-9}$	0	∞	0,998
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,034	1,095	0	∞	1,000
Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,034	3,567	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,034	$1,084 \times 10^{+34}$	0	∞	0,998
HCM < 26,5 pg					
Regressão Logística Binária Múltipla método Forward					
Alfa-tal (sim)	0,005	6,640	1,795	24,560	0,005

Nota: HU: hidroxiuréia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 47 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de VCM no modelo genético de dominância para o rs11865131 e alfa-talassemia, ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	$P[\chi^2]$ Modelo	OR	IC Mín-Máx		p
VCM < 80 fL					
Regressão Logística Binária método Enter					
Idade (meses)	0,077	0,984	0,966	1,003	0,096
Sexo (feminino)	0,303	2,426	0,425	13,829	0,318
Uso HU (sim)	0,049	0,153	0,017	1,351	0,091
Alfa-tal (sim)	0,875	0,84	0,093	7,593	0,877
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,325	0,429	0,075	2,443	0,340
VCM < 80 fL					
Regressão Logística Binária Múltipla método Enter					
Idade (meses)	0,228	0,975	0,95	1,000	0,052
Sexo (feminino)	0,228	0,783	0,028	22,097	0,886
Uso HU (sim)	0,228	$2,960 \times 10^{-9}$	0	∞	0,998
Alfa-tal (sim)	0,228	2,504	0,079	79,379	0,603
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,228	$2,602 \times 10^{-9}$	0	∞	0,998
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,228	$4,795 \times 10^{+8}$	0	∞	0,998
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim)	0,228	$1,146 \times 10^{-9}$	0	∞	0,999
Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim)	0,228	0,248	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,228	$2,763 \times 10^{+9}$	0	∞	0,998
Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,228	$3,617 \times 10^{+8}$	0	∞	0,999
Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,228	0,647	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Deleção Alfa-tal (sim)	0,228	9,122	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,228	$1,289 \times 10^{-18}$	0	∞	0,998
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,228	0,354	0	∞	1,000
Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,228	4,023	0	∞	1,000
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,228	$6,430 \times 10^{+7}$	0	∞	1,000

Nota: HU: hidroxiuréia; $p[\chi^2]$: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 48 - Análise por regressão, dos indivíduos com AF em relação aos níveis de LDH no modelo genético de dominância para o rs11865131 e alfa-talassemia ajustado para sexo, terapia com HU e idade

Variável	P[χ^2] Modelo	OR	IC Mín-Máx		p
LDH \geq 610 U/L Regressão Logística Binária método Enter					
Idade (meses)	0,558	1,004	0,99	1,018	0,559
Sexo (feminino)	0,104	0,441	0,162	1,202	0,110
Uso HU (sim)	0,063	0,394	0,145	1,066	0,067
Alfa-tal (sim)	0,108	0,348	0,088	1,374	0,132
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,497	0,714	0,27	1,890	0,498
LDH \geq 610 U/L Regressão Logística Binária Múltipla método Enter					
Sexo (feminino)	0,143	$1,178 \times 10^{-8}$	0	∞	0,997
Uso HU (sim)	0,143	0,984	0,126	7,704	0,988
Alfa-tal (sim)	0,143	$1,141 \times 10^{-8}$	0	∞	0,997
Idade (meses)	0,143	0,999	0,983	1,016	0,933
Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,143	1,319	0,186	9,364	0,782
Sexo (feminino) * Uso HU (sim)	0,143	$1,218 \times 10^{-9}$	0	∞	0,996
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim)	0,143	$3,685 \times 10^{-17}$	0	∞	0,995
Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim)	0,143	$7,522 \times 10^{-17}$	0	∞	0,996
Sexo (feminino) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,143	$4,356 \times 10^{-9}$	0	∞	0,997
Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,143	0,457	0,025	8,440	0,598
Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,143	$5,579 \times 10^{-17}$	0	∞	0,996
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim)	0,143	$1,935 \times 10^{+17}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,143	$1,346 \times 10^{+9}$	0	∞	0,996
Sexo (feminino) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,143	$5,365 \times 10^{+16}$	0	∞	0,997
Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,143	$3,022 \times 10^{+16}$	0	∞	0,997
Sexo (feminino) * Uso HU (sim) * Alfa-tal (sim) * Dominância <i>NPRL3</i> rs11865131 (AG+AA)	0,143	$2,992 \times 10^{-18}$	0	∞	0,998

Nota: HU: hidroxiuréia; p[χ^2]: valor de p do teste qui-quadrado do modelo de regressão; OR: odds ratio (razão de chance); IC Mín-Máx: intervalo de confiança, mínimo e máximo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

O Quadro 11 resume os principais achados estatisticamente significativos nos modelos que avaliaram as variantes gênicas e co-herança de alfa-tal no presente estudo.

Quadro 11 - Compilação dos achados estatísticos significativos com as variantes de *PPARs*, rs11865131 e co-herança de alfa-talassemia nos indivíduos com anemia falciforme

Parâmetro	Modelo genético	Genótipo (efeito da associação)	Magnitude de Efeito	Correlação	Análise de Regressão
<i>PPARA</i> rs4253747					
Plaquetas	Dominância do alelo A	AT+AA (redução no grupo NHU)	Pequeno	-	-
BT		AT+AA (aumento no grupo HU)	Moderado	-	AT+AA 11x chance aumento
BI		AT+AA (aumento no grupo HU)	Moderado	-	-
HbF		-	-	Negativa baixa	-
Reticulócitos	Recessividade	AA (redução)	Pequeno	NR	-
Monócitos		AA (aumento)	Pequeno	NR	-
APOB		AA (redução)	Moderado	NR	-
<i>PPARG</i> rs10865710					
Monócitos	Recessividade	GG (redução)	Moderado	NR	-
<i>PPARG</i> rs709158					
Plaquetas	Dominância do alelo G	AG+GG (redução no grupo HU)	Moderado	-	-
HbF		AG+GG (aumento no grupo HU)	Pequeno	-	-
LDH		AG+GG (redução no grupo todos)	Moderado	Negativa baixa	AG+GG 91,5% chance redução
VMM		AG+GG (redução)	Elevado	-	-
Co-herança de alfa-tal					
VCM	Com alfa-tal	Redução	Elevado	NR	-
HCM		Redução	moderado (grupo NHU); Elevado (grupos HU e todos)	NR	Com alfa-tal 6x chance de níveis mais baixos
LDH		Redução (no grupo HU)	Elevado	NR	-
<i>NPRL3</i> rs11865131					
Hemoglobina	Dominância do alelo A	AG+AA (aumento no grupo NHU)	Moderado	-	-
BT		AG+AA (aumento no grupo HU)	Moderado	-	AG+AA 5x mais chance BT elevada
BI		AG+AA (aumento no grupo HU)	Moderado	-	AG+AA 4x mais chance BI elevada
APOA1		AG+AA (aumento no grupo NHU)	Moderado	-	-
Hemoglobina	Recessividade	AA (aumento)	Elevado	NR	AA proteção para Hb <11g/dL

Ht		AA (aumento)	Elevado	NR	-
Interação <i>NPRL3</i> rs11865131 e co-herança de Alfa-tal					
Hb	Dominância do alelo A	AG+AA (aumento nos grupos NHU e Todos)	Elevado	NR	-

Nota: (-) análise não significativa; NR: análise não realizada; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Pla: plaquetas; Ret: reticulócitos; Mon: monócitos; BT: bilirrubina total; BI: bilirrubina indireta; APOB: Apolipoproteína B; HbF: hemoglobina fetal; LDH: lactato desidrogenase; VMM: velocidade média máxima; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; Hb: hemoglobina; APOA1: Apolipoproteína A1; Ht: hematócrito.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

6. DISCUSSÃO

Este estudo investigou a associação de polimorfismos genéticos envolvidos na expressão de alfa-globina (rs11865131 em *NPRL3*), homeostase lipídica/inflamatória (*PPARs*) com parâmetros laboratoriais e clínicos, controlando a terapia com HU e coherança de alfa-tal em uma população pediátrica com AF.

6.1. PERFIL CLÍNICO E LABORATORIAL DA POPULAÇÃO DO ESTUDO

Nosso estudo apontou que 48,1% dos indivíduos incluídos na pesquisa passaram por algum episódio de crise álgica no último ano. Após o primeiro ano de vida, a complicação aguda mais frequente é a crise álgica (Brousseau, *et al.*, 2010; Williams, Thein, 2018). Sil, Cohen e Dampier (2016), conduziram um estudo com dor falciforme em uma população com idade média de 13,54 anos, semelhante à da nossa população. Nesse estudo, 40% dos indivíduos com AF (SS) apresentaram alguma crise de dor episódica, enquanto 40% desses foram classificados como portadores de dor crônica, no último mês. Dutra, Biasse e Figueiredo (2023) também encontraram a dor como manifestação mais frequente, tendo ocorrido pelo menos um episódio, com assistência médica, em 78,6% dos casos. Apesar de muito frequente, ainda não existem biomarcadores plasmáticos de dor que melhorem a avaliação e o manejo da dor aguda ou crônica na DF (Brandow; Liem, 2022).

A AF leva a disfunções orgânicas múltiplas, que desencadeiam complicações agudas ou crônicas que podem levar os indivíduos a internação (Bender, 2017; Brasil, 2009; Zhang *et al.*, 2016). Cerca de 1/4 dos indivíduos do nosso estudo relataram internação no último ano. Como não avaliamos os motivos pelos quais os indivíduos precisaram de internação, não podemos indicar quais foram as complicações mais comuns. Geralmente, quando o indivíduo necessita de internação, há a necessidade de transfusão sanguínea (Brasil, 2009; Minas Gerais, 2024). Em nosso estudo, mais de 30% dos indivíduos passaram por pelo menos uma transfusão no ano anterior ao início do estudo e, destes alguns estavam em regime de transfusão. As transfusões esporádicas podem ser realizadas em decorrência de algumas indicações, como por exemplo: AVE, STA, HP, priapismo, crise álgica refratária, infecções graves, gestação, cirurgias entre outras (Minas Gerais, 2024). A terapia transfusional crônica é um tratamento utilizado

principalmente nos pacientes que tem alto risco de desenvolvimento de AVC, com base no Doppler transcraniano (DTC) (Adams *et al.*, 1998).

A triagem anual para aumento do risco de AVC por ultrassom DTC é recomendada pela Sociedade Americana de Hematologia, assim como no Brasil, para crianças de 2 a 16 anos de idade com HbSS ou HbS/ β^0 talassemia. Apesar dessa recomendação, 77% dos indivíduos avaliados neste estudo havia realizado o exame no ano anterior ao início do estudo. Quando utilizamos o resultado do DTC para a classificação para risco de AVE ($VMM \geq 200$ cm/s), apenas 2,35% ($n = 2$) dos indivíduos seriam classificados como tendo alto risco, valor inferior ao encontrado no estudo de Belisário e colaboradores (2015), avaliou 386 crianças com AF de 4,5 a 14,5 anos, e encontrou prevalência de 8,3% de alto risco de AVE (Belisário *et al.*, 2015). Mas, se considerarmos todas as pessoas que foram classificadas como tendo DTC anormal ($VMM > 170$ cm/s), 7,06 % ($n = 6$) entrariam na classificação de alto risco.

A terapia com HU é a mais utilizada no Brasil para pessoas com AF a partir de alguns critérios recomendados pelo MS. A HU foi prescrita para 54,55% das pessoas deste estudo, cenário condizente com a indicação da HU no Brasil, que segue o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) da Doença Falciforme (Brasil, 2018). O protocolo preconiza a terapia com HU em indivíduos a partir de 2 anos ou a partir de 9 meses que se enquadrem em critérios indicativos de complicações clínicas mais graves ao longo da vida. A possibilidade de melhoria do quadro clínico e aumento de sobrevivência do indivíduo tem sido levadas em consideração nas discussões que defendem o uso da HU em todas as crianças com AF a partir dos 9 meses de vida, independentemente da gravidade da doença. Há também uma deliberação contínua sobre a viabilidade da terapia ainda mais precoce, visando melhores resultados ao abordar preventivamente as quedas de HbF e Hb que normalmente ocorrem nos primeiros meses de vida (Iughetti; Bigi; Venturelli, 2016; Schuchard *et al.*, 2019). Uma nova concentração de HU disponível no SUS, fortalece a ideia de seu uso em crianças, aspirando maior facilidade de manipulação, ajuste de doses e melhoria da adesão à terapia (Brasil, 2024b). A dose inicial indicada é 15 mg/kg/dia, caso não se identifique toxicidade hematológica, a dose pode totalizar até 35 mg/kg/dia (Brasil, 2018). A média de dose de HU neste estudo foi de 18,39mg/kg/dia. A HU aumenta a HbF via supressão temporária da hematopoiese e eritropoiese de estresse, o que leva a diminuição da inflamação pela redução dos leucócitos e plaquetas (Brandow; Liem, 2022). Os valores máximos de HbF com a utilização de HU ocorrem geralmente após o primeiro ano de terapia (Maier-Redelsperger *et al.*, 1998). Em nosso

estudo apenas 11,76% dos indivíduos estavam a menos de um ano em terapia com HU, o que indica que a maioria deles já se encontrava com o nível máximo de expressão de HbF.

A HU também gera diminuição da expressão da molécula de adesão e aumento da produção de NO (Brandow; Liem, 2022). Além disso, o seu uso reduz a necessidade de transfusão (Bispo *et al.*, 2017). Embora nós não tenhamos avaliado dados clínicos e laboratoriais anteriores à terapia com a HU, entendemos que a maioria dos indivíduos em terapia são aqueles que apresentam parâmetros laboratoriais de pior prognóstico e/ou maior gravidade nos desfechos clínicos, dado os critérios normativos exigidos para seleção. O perfil hematológico dos indivíduos em terapia com HU foi significativamente melhor do que o dos indivíduos do grupo NHU por apresentar maior valor de média de Hb, Ht, HCM, VCM, HbF e menores valores de média de leucócitos, neutrófilos, monócitos e reticulócitos, resultados consistentes com a ação da HU e com dados da literatura (Bispo *et al.*, 2017; Brandow; Liem, 2022; Matte *et al.*, 2019; Phillips *et al.*, 2018). As análises de regressão mostraram que o uso de HU aumenta substancialmente os níveis de HbF e diminui de BI. Dessa forma, a terapia de HU além de reduzir marcadores de risco de hemólise e inflamação, aumenta a HbF que reduz as complicações clínicas da AF (Bernaudin *et al.*, 2016; Charache *et al.*, 2016; Rankine-Mullings; Nevitt, 2022).

Encontramos na análise de regressão concentrações de HbF significativamente maiores em indivíduos do sexo feminino, o que é condizente com o estudo de Hu, Gao e Li (2018) que encontraram concentrações de HbF maiores em mulheres do que em homens, independentemente da idade (Hu; Gao; Li, 2018). Notamos ainda que os parâmetros de Hb e HbF com a terapia de HU podem aumentar significativamente dependendo dos genótipos de variantes de *PPARs* (genótipo CC de rs10865710 de *PPARG*; genótipos AG+GG de rs709158 de *PPARG* e genótipo TC+CC de rs2016520 de *PPARD*).

Entre as análises lipídicas, as pessoas do grupo HU avaliadas apresentaram maiores médias de APOA1, APOB, CT, LDL, NHDL, HDL, tendendo, portanto, a reduzir a hipocolesterolemia observada nos indivíduos sem terapia. Por outro lado, encontramos que, dependendo de genótipos específicos das variantes de *PPAR* as quais apresentam ações no metabolismo de lipídios, o efeito da terapia de HU pode trazer maior benefício ao indivíduo com AF em relação a normalização dos parâmetros lipídicos (presença do alelo A de rs4253747 de *PPARA*; genótipo CC de rs10865710 de *PPARG*; genótipo AA de rs709158 de *PPARG* e genótipo TT de rs2016520 de *PPARD*). Embora, os dados da

literatura em relação ao efeito dessas variantes sejam ainda controversos (Quadro 6), na maioria dos casos, o alelo C-rs10865710 de *PPARG*, o alelo A-rs709158 de *PPARG* e o alelo T-rs2016520 de *PPARD* estão relacionados ao aumento de lipídios. Dessa forma, a combinação de genótipo de *PPARs* aliado ao uso de HU poderia impactar mais significativamente na modificação do perfil lipídico de indivíduos com AF.

Em trabalhos anteriores, nós mostramos que o subfenótipo dislipidêmico está presente nessa população (Cruz *et al.*, 2021; Valente-Frossard *et al.*, 2020). A melhora do subfenótipo de disfunção hemólise endotelial, naqueles tratados com HU, leva a diminuição da eritropoiese e consequente redução de consumo lipídico pela medula óssea, o que poderia explicar os maiores níveis lipídicos nestes indivíduos. As menores médias de TG como as encontradas na nossa população, também foram relatadas em outros estudos (Adegoke *et al.*, 2016; Akinlade *et al.*, 2014; Aleluia *et al.*, 2017; Cruz *et al.*, 2021; Ephraim *et al.*, 2016; Seixas *et al.*, 2010; Teixeira *et al.*, 2019; Teixeira *et al.*, 2017; Valente-Frossard *et al.*, 2020; Zorca *et al.*, 2010). Na população estudada, a alteração de marcadores de hemácias como VCM e HCM e melhoria dos parâmetros lipídicos com a terapia com HU foi acompanhada por menores médias de marcadores de hemólise, como BT, BD, BI e LDH e redução de marcadores inflamatórios, como leucócitos e aumento de Hb e HbF, efeitos também descritos em outros indivíduos com AF (Bispo *et al.*, 2017; Keikhaei; Yousefi; Bahadoram, 2015; Phillips *et al.*, 2018; Rigano *et al.*, 2018). A alteração no perfil lipídico em relação à terapia da HU na AF ainda é uma controvérsia uma vez que há estudos em que não foi encontrada associação significativa (Lalanne-Mistrih *et al.*, 2018; Teixeira *et al.*, 2017).

6.2 ASSOCIAÇÕES SIGNIFICATIVAS DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS COM PARÂMETROS LABORATORIAIS

As análises de associação, magnitude de efeito, correlação e regressão mostraram que os polimorfismos de *PPARA* e *PPARG* explicam parte das variações encontradas em alguns marcadores de hemólise (bilirrubinas, LDH, reticulócitos), inflamação (monócitos) e vasooclusão/hipercoagulabilidade (plaquetas) na população com AF. Resumidamente, as análises de regressão ajustadas para uso de HU, sexo e idade identificaram que a presença do alelo A-rs4253747 de *PPARA* nos genótipos (AT/AA) é fator de risco para níveis elevados de BT e que o genótipo AG ou GG de *PPARG* rs709158

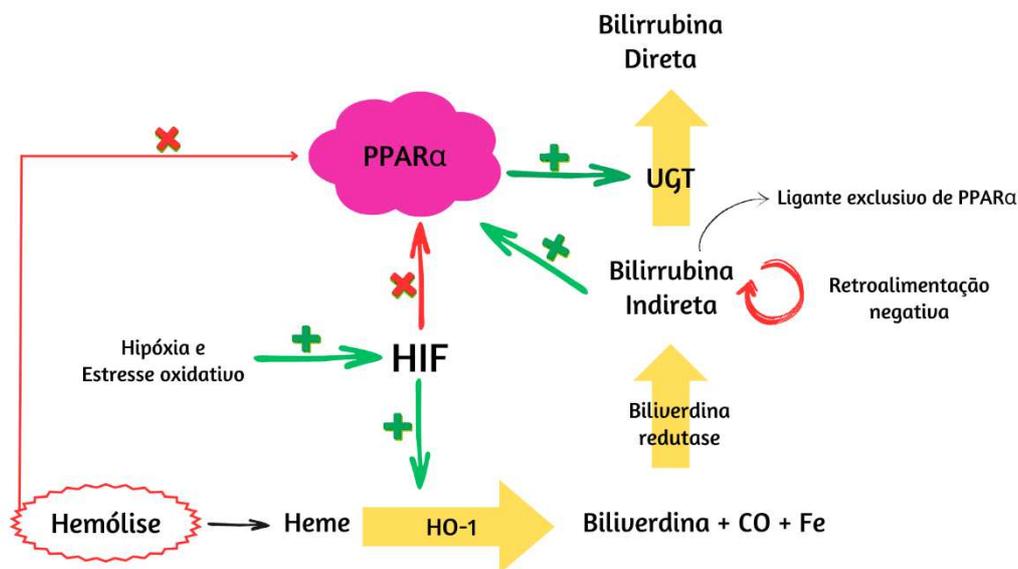
protege contra altos níveis de LDH, ambos utilizados como marcadores de hemólise e inflamação (Praharaj; Anand, 2021).

O genótipo AT ou AA de rs4253747 de *PPARA* apresentou efeito moderado de aumento nos níveis de BT e BI e efeito pequeno de redução em plaquetas; o genótipo AA foi associado à redução de reticulócitos e aumento de monócitos com efeito de magnitude pequeno. É o primeiro relato do efeito de risco do alelo A-rs4253747 associado a níveis elevados de BT na AF. Em indivíduos tibetanos, essa variante foi associada a risco aumentado de perda de apetite em condições de alta altitude (Pan *et al.*, 2019) e outras variantes intrônicas em *PPARA*, em desequilíbrio de ligação, foram associadas a proteção de cefaleia em condições de hipóxia (Shen *et al.*, 2020). Adicionalmente, variantes e haplótipos no gene *PPARA* em indivíduos tibetanos (Simonson *et al.*, 2010) e população da Etiópia (Scheinfeldt *et al.*, 2012), que experimentam condições de extrema altitude, foram também relacionadas à redução dos níveis de hemoglobina, uma forma de adaptação que evita a “doença de montanha” caracterizada por elevada eritropoiese (Majmundar; Wong; Simon, 2010). A adaptação à hipoxia e ao estresse oxidativo são condições relacionadas à indução ou à inibição de vários genes pelos fatores induzíveis por hipóxia (*HIF - Hypoxia-inducible factors*) (Nakayama; Kataoka, 2019). HIF silenciam a expressão do gene *PPARA* (Shen *et al.*, 2020; Simonson *et al.*, 2010) e de seus genes-alvo na tentativa de suprimir o metabolismo oxidativo da beta-oxidação de ácidos graxos e aumentar a capacidade glicolítica das células (Belanger *et al.*, 2007; Mooli *et al.*, 2021). Em condições de hipóxia, geralmente há um aumento da expressão de eritropoietina (EPO) por um dos HIF (*HIF2 α*) na tentativa de manter a homeostase de oxigênio (Majmundar; Wong; Simon, 2010). A redução de hemoglobina na presença de variantes de *PPARA* seria um mecanismo de adaptação em altas altitudes, evitando a “doença de montanha”.

O HIF1- α também aumenta a expressão de heme oxigenase 1 (HO-1), codificada pelo gene *HMOX1*, em condições de hipóxia e estresse celular (Komatsu; Hadjiargyrou, 2004). Na AF, onde a hipoxemia tecidual local na microvasculatura aumenta a adesão endotelial e sustenta a polimerização das hemácias com consequente hemólise e vasooclusão (Papageorgiou *et al.*, 2018), a produção de HO-1 é induzida para catalisar a conversão do heme em biliverdina, monóxido de carbono e ferro ferroso. A biliverdina é convertida em bilirrubina pela bilirrubina redutase (Creeden *et al.*, 2021). A HO-1 confere citoproteção contra a morte celular em vários modelos de lesão pulmonar e vascular, inibindo a apoptose, a inflamação e a proliferação de células imunológicas (Origassa;

Câmara, 2013). Por outro lado, os efeitos protetores da bilirrubina são amplamente reconhecidos, o que levou à sua consideração como terapêutica para uma série de doenças (Ryter; Choi, 2016), incluindo a proteção contra aterosclerose coronariana, doença cardiovascular e outras morbidades (Liu *et al.*, 2015; Wallner *et al.*, 2013). O sistema hepatobiliar é um dos mais afetados na DF visto o processo de falcização intra-hepático durante as crises agudas (vasooclusivas) e manifestações crônicas da doença, e se manifesta desde uma hiperbilirrubinemia benigna a uma falha hepática significativa caracterizando o termo “hepatopatia da doença falciforme” (Shah, Tabora, Chawla, 2017). A colelitíase que afeta cerca de 70% dos indivíduos com DF é consequência da hiperbilirrubinemia não conjugada ou BI (Milton *et al.*, 2012). A bilirrubina indireta, mesmo em concentrações fisiológicas, age como um co-ativador direto e específico de PPAR- α no nucleoplasma para induzir a expressão de vários genes e tem sido considerada um novo ligante endócrino (Creeden *et al.*, 2021; Gordon *et al.*, 2021; Thomas *et al.*, 2022; Vitek, 2020). A glucuronidação ou conjugação da bilirrubina é feita por enzimas denominadas uridina-difosfoglucuronato glucuronosiltransferases (UGT). *UGT1A1* é o regulador clinicamente mais importante deste processo (Perera; Innocenti; Ratain, 2008) e é transcricionalmente regulado por PPAR α (Zhou *et al.*, 2014). Creeden e colaboradores (2021) sugerem que o eixo PPAR α -UGT pode atuar como um mecanismo de retroalimentação negativa para a ação da bilirrubina no PPAR α , resultando na redução dos níveis de bilirrubina e, conseqüentemente, na sua própria atividade sobre o PPAR α (Figura 23). Estudos genéticos de indivíduos afro-americanos com AF demonstraram uma associação de risco entre SNPs de *UGT1A* e bilirrubina total (Milton *et al.*, 2012).

Figura 23: Esquema apontando mecanismos de modulação da atividade de PPAR α pelos eixos HO-1-bilirrubina-PPAR α -UGT e HIF-PPAR α



Nota: A modulação da atividade de PPAR α pode ocorrer de diversas maneiras, entre elas, pelos eixos HIF-PPAR α e HO-1-bilirrubina-PPAR α -UGT. No primeiro, o HIF atuará ativando a ação de HO-1 em converter heme em biliverdina, monóxido de carbono e ferro ferroso, HIF também silencia a expressão do gene *PPARA*, que conseqüentemente diminuirá a ativação de UGT.

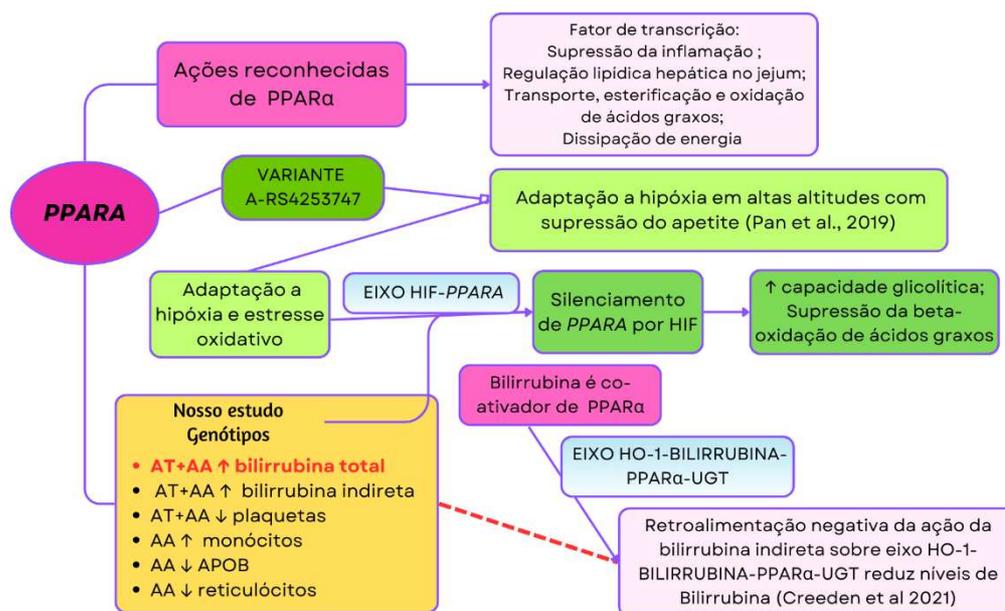
Já no eixo HO-1-bilirrubina-PPAR α -UGT, acontece a ativação de PPAR α por ação da bilirrubina indireta, que atuará como um ligante coativador de PPAR α , incentivando sua atuação em aumentar a atividade de UGT em converter BI em BD. Um mecanismo de retroalimentação negativa, para a ação da bilirrubina no PPAR α estará em funcionamento, resultando na redução dos níveis de bilirrubina e, conseqüentemente, na sua própria atividade sobre o PPAR α . PPAR α : receptor ativado por proliferação de peroxissomos alfa; HIF: fatores induzíveis por hipóxia; HO-1: heme oxigenase 1; UGT: uridina-difosfoglucuronato glucuronosiltransferases.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Diante desses cenários que envolvem os eixos HO-1-bilirrubina-PPAR α -UGT e HIF-PPAR α , nós sugerimos que a variante A-rs4253747 em indivíduos com AF, em decorrência de expressão aumentada ou da falha de modulação da expressão de *PPARA* por HIFs ou outros fatores, em condições de hipóxia e estresse oxidativo, associa-se ao aumento de bilirrubinas devido a magnitude de efeito moderado e associação de risco significativo na análise de regressão. Portanto, sugerimos que o eixo de retroalimentação negativa PPAR α -UGT pode estar comprometido na presença da variante A-rs4253747. Dessa forma, postulamos que a forte associação observada para aumento do risco de níveis altos de BT e de outros marcadores com associação menos evidenciada neste estudo, pode ser resultado da ação pleiotrópica e da função reguladora transcricional que PPAR α exerce sobre o eixo de sinalização anti-oxidante e anti-inflamatório HO-1-bilirrubina-PPAR α -UGT em condições de hemólise/estresse oxidativo/inflamatório,

estado fisiopatológico desencadeado pela AF, que exacerba a tendência de hiperbilirrubinemia na doença (Figura 24).

Figura 24: Conexões das atividades reconhecidas de PPAR α , da variante A-rs4253747 de PPAR α , dos eixos HO-1-bilirrubina-PPAR α -UGT e HIF-PPAR α e dos resultados encontrados no nosso estudo



Nota: O PPAR α é um fator de transcrição que atua em diversos genes alvos envolvidos em supressão da inflamação, regulação do metabolismo lipídico hepático durante o jejum, transporte, esterificação e oxidação de ácidos graxos e dissipação de energia. A variante A-rs4253747 foi associada a adaptação à hipóxia em altas altitudes com supressão do apetite, o que seria uma adaptação a hipóxia e ao estresse oxidativo via eixo HIF-PPARA. A explicação seria o silenciamento do gene PPARA por HIF com intuito de aumentar a capacidade glicolítica das células com supressão do metabolismo oxidativo da beta-oxidação de ácidos graxos. A BI é um co-ativador de PPAR α , aumentando a atividade de UGT em converter BI em BD, por um mecanismo de retroalimentação negativa. Em nosso estudo, o alelo A-rs4253747 foi associado a aumento de BT, BI, monócitos e redução de plaquetas, APOB e reticulócitos. Propomos que a presença do alelo A-rs4253747 de PPARA faz com que o processo de retroalimentação negativa do eixo HO-1-BILIRRUBINA-PPARA-UGT esteja diminuído ou inexistente e que a atividade de silenciamento de HIF sobre o PPARA esteja mais em evidência na presença dessa variante, uma vez que os níveis de BT estão mais elevados em indivíduos que apresentam o alelo A. As informações destacadas em vermelho foram significativas na análise de regressão. PPAR α : receptor ativado por proliferação de peroxissomos alfa; HIF: fatores induzíveis por hipóxia; BT: bilirrubina total; BI: bilirrubina indireta; APOB: Apolipoproteína B; UGT: uridina-difosfoglucuronato glucuronosiltransferases.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Nossa hipótese de que o alelo A-rs4253747 leva a expressão aumentada de PPAR α , é também fortalecida pelo achado que homozigotos para o alelo de menor frequência (genótipo AA) apresentam menores índices de ApoB. PPARA é altamente expresso no fígado, onde exerce funções de controle de metabolismo lipídico,

especialmente oxidação de ácidos graxos (Kersten; Stienstra, 2017) e está relacionado com níveis de lipídios (Christofides *et al.*, 2021; Duszka *et al.*, 2020; Kota, Huang, Roufogalis, 2005; Monsalve *et al.*, 2013; Wagner *et al.*, 2010). Outros polimorfismos de *PPARA* em GWAS foram associados ao aumento dos níveis de colesterol total e LDL-C (Willer *et al.*, 2013), de NHDL-C (Graham *et al.*, 2021), de ácidos graxos de cadeia longa (Lemaitre *et al.*, 2015) e ApoB. Como exemplo, três estudos independentes mostraram que o alelo 7C do SNP rs4253778 no íntron 7 G > C de *PPARA* apresenta efeito protetor na regulação do metabolismo de lipídios. O primeiro estudo, envolvendo população brasileira, encontrou que o alelo 7C-rs4253778 foi significativamente associado com menores níveis de VLDL e maiores de HDL-C (Chen *et al.*, 2010); o segundo estudo com população com doença cardíaca isquêmica mostrou que níveis de LDL-C e TG eram menores em portadores do alelo 7C (Balcerzyk; Zak; Krauze, 2007) e o terceiro estudo com população chinesa mostrou que portadores do alelo 7C-rs4253778 apresentam menor razão apoA-1/apoB (Hai *et al.*, 2014). Curiosamente, este mesmo alelo 7C-rs4253778 e a variante de sentido trocado Leu162Val rs1800206 C>G (estão em desequilíbrio de ligação) e mostram efeitos significativos no desempenho de velocidade/potência em atletas e no perfil lipídico incluindo níveis de Apo-B (Maciejewska-Skrendo *et al.*, 2019; Vohl *et al.*, 2000). O rs4253747 que analisamos também está localizado em região não codificadora, no íntron 2 (NM_001393941.1:c.370-923T>A). Embora não seja conhecida a função específica destas variantes intrônicas, elas poderiam fazer um papel de ligação a vários fatores de transcrição (ou seja, promotor ou *enhancer*), afetar a própria transcrição ou ainda regular microRNAs que afetam a expressão de *PPARA* e, conseqüentemente, sua ação transcricional sobre outros genes (Shen *et al.*, 2020) ou ainda, estarem em desequilíbrio de ligação com outra variante funcional não identificada. Provavelmente, a dislipidemia, que predomina nos indivíduos com AF (Seixas *et al.*, 2010; Zorca *et al.*, 2010 e outros) não pode ser explicada somente pelas variantes de PPARs mas, por mecanismos intrínsecos à doença. Pode também existir outros fatores genéticos e/ou ambientais envolvidos que ainda não foram investigados, ou a população deste estudo foi insuficiente para alcançar poder estatístico para identificar pequena variação nos parâmetros lipídicos. Posteriores estudos são necessários para esclarecer se a variante rs4253747 está associada ao aumento da expressão de *PPARA* e como isso impacta na fisiopatologia da AF.

Além do *PPARA*, outro membro da subfamília de receptores nucleares PPARs é o gene *PPARG* que codifica o fator de transcrição PPAR- γ . A proteína PPAR- γ exerce

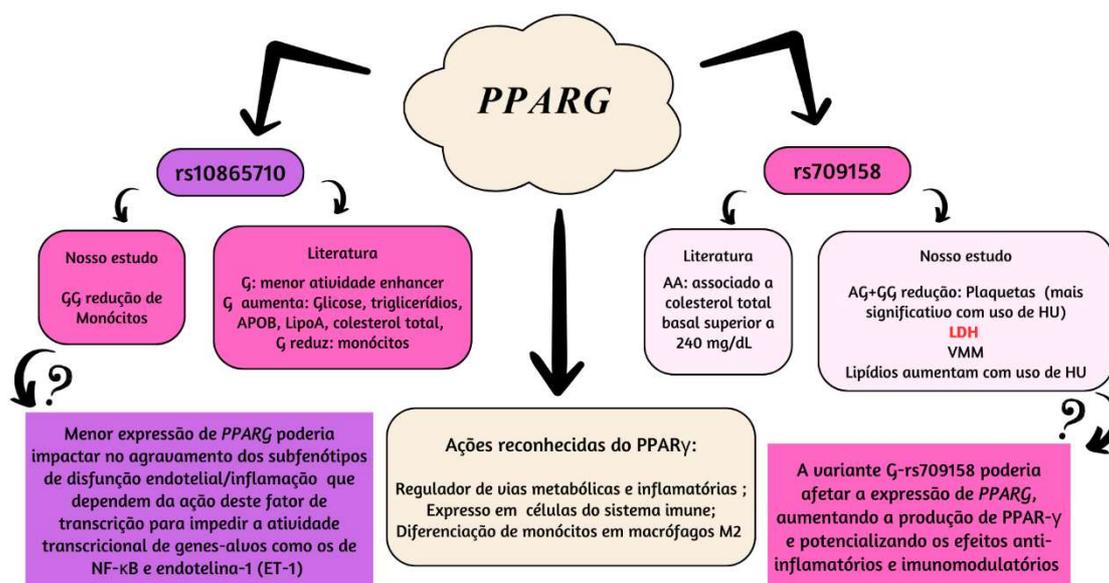
funções regulatórias em várias vias metabólicas e inflamatórias pelo controle transcricional de genes alvos. Em nosso estudo foram investigados dois polimorfismos de *PPARG*: rs709158 e rs10865710. O SNP rs709158 A/G é uma variante do íntron 2 bem como rs10865710 (c.-681C>G). Redução moderada na contagem de plaquetas e redução de magnitude elevada na VMM, bem como pequeno aumento de HbF foram encontrados para os genótipos AG+GG do rs709158 de *PPARG*. Além disso, os quatro tipos de análises estatísticas realizadas na nossa população de AF mostraram efeito de redução moderado em LDH nos genótipos AG+GG, ou seja, a presença do alelo G-rs709158 (genótipos AG e GG) é fator protetor para níveis reduzidos de LDH. O alelo G-rs709158 foi associado à redução de plaquetas ($p = 1,761 \times 10^{-37}$; $\beta = -0.0221$) mas não alcançou significância para LDH nos dados compilados de estudos GWAS disponíveis no portal CMDKP que incluem resultados genéticos, epigenômicos e computacionais para múltiplas doenças e características metabólicas (HuGeAMP, 2024a). A LDH, uma enzima intracelular, é um biomarcador indireto clássico de hemólise intravascular crônica (Land *et al.*, 2013) e é considerada marcador diagnóstico e prognóstico de complicações agudas e crônicas na DF (Aleluia *et al.*, 2017; Land *et al.*, 2013; Stojanovic; Lionnet, 2016). A LDH correlaciona-se com contagens de reticulócitos, sendo relacionada à gravidade da DF e com moléculas de adesão solúveis derivadas do endotélio, consideradas marcadores de ativação endotelial que são normalmente reprimidas por NO (Gilli *et al.*, 2016). O *PPARG* é altamente expresso pelos adipócitos, músculos esqueléticos, fígado e rim e, em menor extensão, no cólon e nas células do sistema imunológico – macrófagos. Recentemente, foi mostrado que aumento de PPAR- γ alivia a lesão hepática induzida por sepse, reduz enzimas aspartato aminotransferase sérica (AST), alanina aminotransferase (ALT), bilirrubina total (BT) e aumenta a liberação de LDH (Li *et al.*, 2022). Foi mostrado que a LDH, um marcador de hemólise/inflamação, está associado com VMM em crianças brasileiras com AF (Adanho *et al.*, 2022). Em nosso estudo, os parâmetros tanto a VMM quanto a LDH nos indivíduos em terapia de HU e de genótipos AG ou GG de rs709158 estavam reduzidos. Embora não saibamos afirmar se a variante G-rs709158 realmente afeta a expressão de *PPARG* por algum mecanismo específico, possivelmente aumentando a produção de PPAR- γ e potencializando os efeitos anti-inflamatórios e imunomodulatórios que podem ser benéficos para os indivíduos com AF, nossos achados apontam essa possibilidade.

Adicionalmente, e em relação ao polimorfismo rs10865710 nós encontramos diferença significativa para redução da contagem de monócitos com tamanho do efeito

moderado em indivíduos de genótipo GG. No entanto, o resultado com análise de regressão não alcançou significância provavelmente porque, para essa análise, o ideal é ter, no mínimo, dez indivíduos para cada variável inserida no modelo e no estudo havia somente nove indivíduos com genótipo GG. Alelo G-rs10865710 foi associado à redução de monócitos ($p = 0,01352$ $\beta = -0,0044$) nos dados compilados de estudos GWAS disponíveis no portal CMDKP que incluem resultados genéticos, epigenômicos e computacionais para múltiplas doenças e características metabólicas (HuGeAMP, 2024b). No estudo de Lu e colaboradores (2019) foi demonstrado que o alelo G-rs10865710 reduz a atividade de ligação ao DNA do fator de transcrição CREB2 ao promotor de *PPARG* e, portanto, essa variante está associada com menor atividade *enhancer* transcricional. Neste mesmo estudo, a sepse traumática foi associada à presença de genótipos CG e GG de rs10865710. O *PPARG* é expresso em vários tipos de células do sistema imunológico tanto do inato quanto do adaptativo. Esses sistemas são fortemente influenciados pela ativação do PPAR, desencadeando a diferenciação de monócitos em macrófagos M2 (Song *et al.*, 2019), e outras populações de leucócitos, como linfócitos e células dendríticas (Hutter *et al.*, 2013). Sabe-se que o aumento de monócitos está correlacionado ao aumento de PPAR- γ e redução de NF- κ B proporcionando um fenótipo anti-inflamatório com macrófagos M2 (Antunes *et al.*, 2020; Bouhleb *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2021). Na doença falciforme, os monócitos, ativados por HbS livre, desempenham um papel essencial na inflamação, sendo responsáveis por uma maior produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , interleucina-1 β (IL-1 β) e IL-6 (Allali *et al.*, 2022). PPAR- γ é expresso também pelo endotélio vascular pulmonar e sua repressão em presença de hipóxia foi relacionada a hipertensão pulmonar (HP) (Lu *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015). Produtos derivados da hemólise também podem reduzir PPAR- γ , contribuindo para HP na AF, via sinalização PPAR- γ /HUWE1/miR-98 que aumenta NF- κ B e endotelina-1 (ET-1) ocasionando a disfunção endotelial (Jang *et al.*, 2021). Transcriptômica de monócitos CD14⁺ na DF mostrou o envolvimento dessas células no desenvolvimento da vasculopatia apoiado pela regulação positiva da sinalização de *PPARG*, *GUCY1A1*, *KLF5*, *CTSL* e *CXCR3* (*CXCL9* e *CXCL11*), que haviam sido previamente associadas ao remodelamento vascular e ao desenvolvimento de HP (Vuren *et al.*, 2021). Em nosso estudo, a redução de monócitos observado nos indivíduos com AF e de genótipo GG-rs10865710 não pode ser explicada como causa-efeito da diminuição de expressão de PPAR- γ já que essa é realizada por monócitos. Mas, se o genótipo GG-rs10865710 ocasiona menor expressão de *PPARG*, nós podemos propor

que este efeito pode impactar no agravamento dos subfenótipos de disfunção endotelial/inflamação e alguns desfechos clínicos da AF que dependem da ação deste fator de transcrição para impedir a atividade transcricional de genes-alvos como os de NF- κ B e ET-1 (Jang *et al.*, 2021). Desse modo, para definir se a variante rs10865710 de *PPARG* tem relação causa-efeito com monócitos ou se agrava os desfechos clínicos ou se trata de um resultado estatístico sem relação biológica, nós precisamos realizar outros experimentos para correlacionar a expressão de PPAR- γ pelos genótipos de rs10865710 com a caracterização clínica e laboratorial em maior número de indivíduos com AF e grupo controle. Destacamos as ações reconhecidas do PPAR- γ e das variantes rs10865710 e rs709158 de *PPARG*, além dos nossos achados e hipóteses na figura 25.

Figura 25: Esquema indicando ações reconhecidas do PPAR γ e das variantes rs10865710 e rs709158 de *PPARG*, nossos achados e hipóteses



Nota: O PPAR γ é um regulador das vias metabólicas e inflamatórias, expresso em células do sistema imune e contribui para a diferenciação de monócitos em macrófagos M2. A variante G-rs10865710 de *PPARG* está associada a menor atividade enhancer e aumento de glicose, triglicerídeos, APOB, LipoA e colesterol total e reduz monócitos. Em nosso estudo o alelo GG desta variante foi associado a redução de monócitos. Nossa hipótese é de que uma menor expressão de *PPARG* poderia impactar no agravamento dos subfenótipos de disfunção endotelial/inflamação que dependem da ação deste fator de transcrição para impedir a atividade transcricional de genes-alvos como os de NF- κ B e endotelina-1 (ET-1). A variante G-rs709158 está associada a colesterol total basal superior a 240 mg/dL. Em nosso estudo os genótipos AG+GG reduzem plaquetas (mais significativo com uso de HU), LDH, VMM e lipídios aumentam com uso de HU nestes genótipos. Nossa hipótese é que a variante G-rs709158 poderia afetar a expressão de *PPARG*, aumentando a produção de PPAR- γ e potencializando os efeitos anti-inflamatórios e imunomodulatórios. O LDH destacado em vermelho foi associado na análise de regressão com genótipos AG+GG. PPAR- γ : receptor ativado por proliferação de peroxissomos gama; rs: referência de SNP; HU: hidroxúria; APOB: apolipoproteína B; LipoA: lipoproteína

A; NF- κ B: fator nuclear kappa B; LDH: lactato desidrogenase; VMM: velocidade média máxima; mg/dL: miligrama por decilitro.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Neste estudo nós também avaliamos a co-herança de alfa-talassemia, um dos principais modificadores do fenótipo clínico na DF (Liu *et al.*, 2016) e o polimorfismo rs11865131 no íntron 5 de *NPRL3* que tanto altera a expressão dos genes de alfa-globina como foi sugerido como um modificador do efeito de alfa-tal na AF (Raffield *et al.*, 2018). Em nossa população de estudo 19% dos participantes com AF eram homozigotos ou heterozigotos para a deleção $\alpha^{-3.7Kb}$. A co-herança da alfa-tal, na maioria dos casos causada por mutações deletionais dos genes *HBA1/HBA2* na AF, é comumente relatada em diferentes populações de descendência africana. Na África, a frequência de deleção de genes *HBA* na DF é de 0,58 (McGann *et al.*, 2014). Figueiredo *et al.* (2017), em estudo realizado em Nova York com indivíduos HbSS e HbS β^0 , encontraram a frequência de 0,42 da deleção $\alpha^{-3.7Kb}$. Liu e colaboradores (2016) estimaram que aproximadamente um terço dos indivíduos africanos e seus descendentes que possuíam algum tipo de DF apresentam co-herança de alfa-tal. No Brasil, onde a prevalência do portador silencioso de alfa-tal na população em geral pode atingir até 20% e se considerarmos os indivíduos afrodescendentes, essa frequência pode alcançar 20% a 25% (Cançado, 2006), a co-herança de $\alpha^{-3.7Kb}$ e AF foi de 0,14 na Bahia (Aleluia *et al.*, 2017) e em Minas Gerais, em indivíduos de genótipos SS, S β^0 -tal, ou S β^+ -tal tipo I, a prevalência de $\alpha^{-3.7Kb}$ foi de 25,5% (Belisário *et al.*, 2015).

A co-herança de alfa-tal em indivíduos com DF é considerada um importante fator modulador por alterar parâmetros hematológicos, diminuir a HbS dentro das hemácias e conseqüentemente levar a redução da polimerização (Quinn, 2016; Schechter, 2008) e da hemólise (Quinn, 2016). Semelhante a outros estudos (Aleluia *et al.*, 2017; Belisário *et al.*, 2010b; Figueiredo *et al.*, 2017; Hsu *et al.*, 2003), nós encontramos associações significativas negativas de magnitudes elevadas de alfa-tal com VCM e HCM nos grupos com ou sem terapia de HU. Na população do estudo, a co-herança de alfa-tal é capaz de prever apenas os níveis de HCM abaixo de 26,5 g/dL. Para VCM, o modelo de regressão logística binária foi significativo, contudo, o resultado da regressão não alcançou significância. Estes dados estão de acordo com Rahimi e colaboradores (2006) que também só encontraram redução em HCM.

Em adição à co-herança de alfa-tal, nós analisamos o SNP rs11865131 A/G e avaliamos o seu efeito nos parâmetros laboratoriais e dados clínicos na população com

AF, isoladamente ou em combinação com alfa-tal. A frequência do alelo A-rs11865131 foi maior entre indivíduos AF sem alfa-tal (0,33) em comparação com aqueles que apresentam a co-herança de alfa-tal (0,21), semelhante ao relatado por Raffield e colaboradores (2018), que encontraram frequências de 0,27 e 0,14, respectivamente, para o rs11248850, variante em desequilíbrio de ligação com a rs11865131. Entretanto, sem diferença significativa, no nosso estudo. Alguns estudos indicam que parte da heterogeneidade fenotípica da AF relacionada a alfa-tal poderia ser explicada por variantes nos elementos reguladores do agrupamento de genes *HBA1/2*, que podem regular positiva ou negativamente a expressão gênica (Milton; Shaikho; Steinberg, 2019; Steinberg *et al.*, 2019). A variante de íntron rs11865131 do gene *NPRL3* sobrepõe a região reguladora MCR-2 dos genes do grupo alfa-globina. O SNP rs11865131 foi caracterizado como um loci de características quantitativas de expressão (e-QTL “*Expression quantitative trait loci*”) por afetar a atividade deste *enhancer* (Ghazi *et al.*, 2020) e levar a mudanças significativas no nível de metilação de dinucleotídeos CpG dentro da região de α -globina e em região CpG a menos de 300 pares de base distante do elemento MCS-R2 (McRae *et al.*, 2018; Raffield *et al.*, 2018). Embora ainda sem mecanismo esclarecido, Raffield e colaboradores (2018) sugerem que o alelo A-rs11865131 prejudica a atividade *enhancer* mas, paradoxalmente, acarreta um aumento da expressão dos genes *HBA1/HBA2* e, possivelmente, está associado às modificações dos parâmetros clínicos e laboratoriais. Nós não encontramos associação de rs11865131 com os dados clínicos avaliados (crises álgicas, internação, transfusão ou VMM), mas detectamos associações com parâmetros laboratoriais. Nós observamos que a presença do alelo A-rs11865131 nos genótipos está associada ao aumento aditivo e significativo de Hb e que o genótipo AA é protetor para níveis baixos de Hb (< 11 g/dL) e aumento elevado de hematócrito na população total de AF estudada. Porém, diferente da co-herança de alfa-tal, não se observou alteração dos índices de VCM e HCM entre os genótipos, mas, nos genótipos AG e AA houve um aumento de magnitude moderada em BT, BI e APOA1. No entanto, quando separamos os grupos em indivíduos com alfa-tal e sem alfa-tal, nós conseguimos mostrar que o efeito do alelo A-rs11865131 no aumento de Hb somente ocorre no grupo com co-herança de alfa-tal e que VCM e HCM não diferem entre os genótipos de rs11865131, mas tendem a normalizar esses parâmetros nos indivíduos com a presença do alelo A, embora sem alcançar significância. Nós também não conseguimos replicação do efeito sobre os parâmetros de BT, BI ou APOA-1 dentro dos grupos de alfa-tal ou sem alfa-tal, que não diferiram significativamente entre os

genótipos de A-rs11865131. Esses achados poderiam ser explicados por uma das situações: redução de tamanho amostral que diminui o poder estatístico para detectar pequenas variações ou à distribuição alélica de rs11865131 diferente nas populações com e sem co-herança de alfa-tal, o que não ocorre na nossa população. Em estudo envolvendo indivíduos com AF, a presença de A-rs11865131 e co-herança alfa-tal foi associado a normalização dos parâmetros hematológicos com maiores índices de VCM e HCM (particularmente HCM), menor risco de infarto cerebral (Raffield *et al.*, 2018) e anulou o efeito de redução da hemólise de alfa-tal no grupo de indivíduos sem terapia com HU (Milton; Shaikho; Steinberg, 2019).

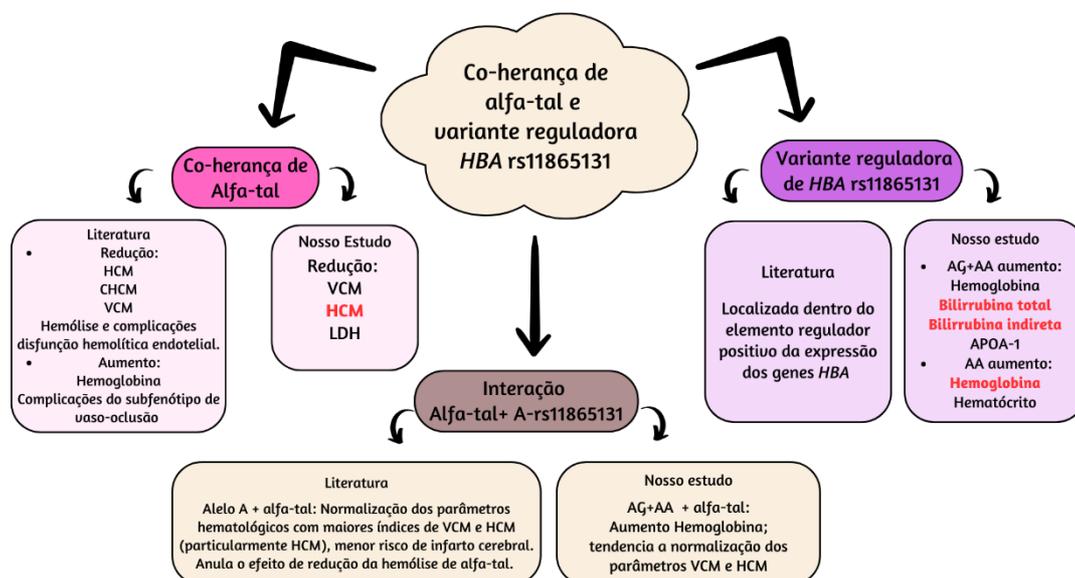
Um achado surpreendente em nosso estudo, e não apresentado em outros com AF, é de que os indivíduos, com ou sem alfa-tal, em terapia de HU e portadores da variante rara A-rs11865131 possuem 5 vezes mais chance de ter níveis altos de BT em relação aos que não possuem o polimorfismo (OR:5,037; IC:1,065-23,816; p=0,041). Ainda avaliando níveis de bilirrubina, encontramos que a terapia de HU reduz a chance de aumento de BI (OR: 0,062; IC:0,012-0,319; p<0,001), mas a presença da variante A-rs11865131 aumenta em 4 vezes a chance de alta BI (OR: 4,052; IC:1,121-14,649; p=0,033). Ou seja, detectamos a redução das BT e BI em relação ao uso de HU, mas, risco de aumento desses marcadores de hemólise na AF quando o indivíduo apresenta o alelo A-rs11865131 de *NPRL3*. Estes dados mostram um forte efeito do alelo A-rs11865131 mesmo sob terapia de HU. No entanto, devido ao pequeno número de indivíduos com alfa-tal (19%), o efeito da variante A-rs11865131 em anular o efeito redutor da hemólise da co-herança de alfa-tal (Milton; Shaikho; Steinberg, 2019), não pode ser mostrado na nossa população de estudo, mas, foi observado que o alelo A-rs11865131 na AF está associado a hemólise. Adicionalmente, identificamos que a terapia de HU tem maior potencial de benefício na melhoria de parâmetros hematológicos de gravidade e nos níveis de lipídios em indivíduos que não apresentam o alelo A-rs11865131 no genótipo.

Outro polimorfismo próximo à região reguladora no intron 1 de *NPRL3* rs7203560, mas com efeito oposto a rs11865131, foi associado a redução de marcadores de hemólise na AF (Milton *et al.*, 2013). Em outro estudo foi encontrado que a combinação de co-herança de alfa-tal e a variante *NPRL3*-rs11248850 (que junto com rs11865131 foram mostradas como elementos reguladores positivos de *HBA1/HBA2*) é um fator de risco para hiperfiltração glomerular, mas protetora para albuminúria no estágio A2 na AF (Mnika *et al.*, 2022; Ndour *et al.*, 2022).

Para confirmar o efeito de A-rs11865131 em anular a ação protetora de co-herança de alfa-tal na AF e confirmar se nossos achados sobre risco de aumento de marcadores de hemólise paradoxalmente a seu efeito de proteção para níveis baixos de Hb (aumento significativo de Hb somente no grupo com co-herança de alfa-tal), nós precisaremos aumentar o tamanho amostral.

O fato de que é alta a frequência da variante A-rs11865131 (0,30) na população estudada e que varia de 0,15 a 0,48 (Projetos 1000 Genome e Alpha) em outras populações, nos apontam que a interação desse SNP com co-herança de alfa-tal na AF pode estar interferindo nos achados controversos em relação ao efeito protetor ou de risco dos desfechos clínicos (Serjeant; Vichinsky, 2018; Williams; Thein, 2018) em estudos que não avaliaram o SNP rs11865131. A figura 26 contempla um resumo de resultados encontrados neste estudo e na literatura da co-herança de alfa-tal, da variante reguladora dos genes *HBA1/HBA2* rs11865131 e da interação de ambas.

Figura 26: Resumo de resultados encontrados neste estudo e na literatura da co-herança de alfa-tal, da variante reguladora dos genes *HBA1/HBA2* rs11865131 e da interação de ambas



Nota: A alfa-tal está associada a redução de HCM, CHCM e VCM, hemólise e complicações da disfunção hemolítica endotelial; aumento de hemoglobina e complicações do subfenótipo de vaso-oclusão. Na nossa população a alfa-tal reduziu VCM, LDH e HCM. A variante rs11865131 está localizada dentro do elemento regulador positivo da expressão dos genes HBA1/HBA2. No nosso estudo, a presença do alelo A-rs11865131 aumentou hemoglobina e marcadores de hemólise (bilirrubinas). A presença do alelo A-rs11865131 concomitante com a alfa-tal normaliza os parâmetros HCM e VCM, está associado a menor risco de infarto e anula o efeito redutor de hemólise de alfa-tal. No grupo com alfa-tal e presença do alelo A-rs11865131 de nosso estudo encontramos aumento de hemoglobina sem alteração de HCM e VCM. As informações destacadas em vermelho foram significativas na análise de regressão. Alfa-tal: alfa talassemia; rs:

referência de SNP; HU: hidroxiuréia; APOA: apolipoproteína A; LDH: lactato desidrogenase; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

O presente estudo apresenta algumas limitações que podem confundir ou reduzir a generalidade dos nossos resultados. A primeira etapa de quase todos os estudos de associação genética necessita de um número adequado de participantes no grupo de estudo. No nosso caso, o tamanho da amostra, apesar de ter sido feito e obedecido o cálculo de tamanho amostral, o número de participantes pode não ter sido suficiente para atingir poder estatístico que permitisse identificar efeitos moderados ou pequenos dos polimorfismos, especialmente em análises de regressão. Assim, vimos a necessidade de replicar os nossos resultados noutra população, de preferência maior. A ausência de um grupo controle saudável e o fato de a pesquisa ter sido realizada em um único centro foram também limitadores. Nós cuidamos para incluir fatores modificadores da AF e variáveis de confusão nas nossas análises como tratamento com HU, sexo, idade e coherança de alfa-tal. Apesar dessas limitações, acreditamos que nossos resultados com as variantes dos genes *PPARs* e variante reguladora da expressão dos genes *HBA1/2* devem contribuir para entender melhor se a composição genética influencia o caráter multifatorial e a gravidade da AF.

Os dados clínicos coletados nesse estudo não foram suficientes para detectar o impacto do aumento de marcadores de hemólise nas complicações da AF. A colelitíase, que é uma das consequências clínicas de aumento de bilirrubinas, não foi investigada nos participantes deste estudo. Há necessidade de ampliar os dados de desfechos clínicos para identificar associações com os SNPs avaliados. A análise de expressão gênica correlacionando com os polimorfismos de *PPARs* poderia auxiliar a corroborar as hipóteses aqui aventadas, definir possíveis mecanismos de ação envolvidos e esclarecer se há relação causa-efeito nas complicações da AF.

7. CONCLUSÃO

Os polimorfismos de genes *PPARs* estão associados a marcadores de hemólise na AF: a variante A-rs4253747 de *PPARA* é capaz de predizer aumento de BT e a variante G-rs709158 de *PPARG* redução de LDH. Tais resultados justificam-se com base nas ações de *PPARA* em vias inflamatórias e de estresse oxidativo em condições de hipóxia e de *PPARG* na via anti-inflamatória. Adicionalmente, mostramos que o impacto da terapia da HU pode ser mais significativo para a alteração de parâmetros lipídicos quando os indivíduos com AF são portadores de genótipos específicos de todas as variantes de *PPAR* analisadas neste estudo. A co-herança de alfa-tal, presente em 19% dos indivíduos com AF avaliados, acarreta HCM e VCM reduzidos e pode predizer redução de HCM. Mostramos também que a variante A-rs11865131, reguladora positiva da expressão dos genes *HBA1/HBA2*, foi associada a maiores níveis de Hb em indivíduos com co-herança de alfa-tal e, na população total, é capaz de predizer o risco de níveis aumentados dos marcadores de hemólise BT e BI independente do uso de HU. Variantes normalmente explicam somente uma pequena proporção da variação fenotípica devido ao caráter poligênico das variáveis avaliadas. Nosso estudo contribuiu para mostrar a importância de investigar interações genéticas que podem interferir nas avaliações de associação. Será necessário validar os nossos resultados em coortes maiores de AF para aumentar o número de indivíduos com alfa-tal e analisar os efeitos da variante regulatória rs11865131 e, também, realizar estudos de expressão gênica para investigar se existe um efeito causal das variantes de *PPARs*.

REFERÊNCIAS

- ABBOUD, M.R. Standard management of sickle cell disease complications. **Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy**, Riade, v. 13, n. 2, p. 85-90, Jun 2020.
- ABODERIN, F.I. *et al.* A Review of the Relationship between the Immune Response, Inflammation, Oxidative Stress, and the Pathogenesis of Sickle Cell Anaemia. **Biomedicines**, Moscou, v. 11, n. 9, p. 2413, 2023.
- ADAMS, R.J. *et al.* Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial Doppler ultrasonography. **N Engl J Med.**, Waltham, v. 339, n. 1, p. 5-11, 1998.
- ADANHO, C.S.A. *et al.* Association of laboratory markers and cerebral blood flow among sickle cell anemia children. **Frontiers in Pediatrics**, Lausanne, v. 10, p. 914466, 2022.
- ADEGOKE, S.A, OKENIYI, J.A.O, AKINTUNDE, A.A. Electrocardiographic abnormalities and dyslipidaemic syndrome in children with sickle cell anaemia. **Cardiovascular Journal of Africa**, Durbanville, v. 22, n. 1, p. 16-20, 2016.
- AKINLADE, K.S. *et al.* Defective lipid metabolism in sickle cell anaemia subjects in vaso-occlusive crisis. **Niger Med J**, Abuja, v. 55, n. 5, p. 428–431, 2014.
- AKINSHEYE, I. *et al.* Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. **Blood**, Washington, v. 118, n. 1, p. 19-27, 2011.
- ALAGBE, A. E. *et al.* Interleukin-27 and interleukin-37 are elevated in sickle cell anemia patients and inhibit in vitro secretion of interleukin-8 in neutrophils and monocytes. **Cytokine**, Oradell, 107: 85-92, 2018.
- ALBENSI, B.C. What is nuclear factor kappa B (NF-κB) doing in and to the mitochondrion? **Frontiers in cell and developmental biology**, Lausanne, v. 7, p. 154, 2019.
- ALELUIA, M.M., *et al.* Association of classical markers and establishment of the dyslipidemic sub-phenotype of sickle cell anemia. **Lipids Health Dis**, v. 16, n.1 , p. 74, 2017.
- ALEXY, T. *et al.* Sickle cell disease: selected aspects of pathophysiology. **Clinical hemorheology and microcirculation**, Amsterdã, v. 44, n. 3, p. 155-166, 2010.
- ALIMOHAMMADI-BIDHENDI, S. *et al.* Regulatory Mutation Study in Cases with Unsolved Hypochromic Microcytic Anemia and α -Major Regulatory Element Haplotype Analysis in Iran. **Hemoglobin**, Creteil, v. 45, n. 1, p. 37-40, 2021.
- ALLALI, S. *et al.* HbS promotes TLR4-mediated monocyte activation and proinflammatory cytokine production in sickle cell disease. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, Washington, v. 140, n. 18, p. 1972-1982, 2022.

AMARAL, J.L. *et al.* Perfil sociodemográfico, econômico e de saúde de adultos com doença falciforme. **Rev Rene**, Fortaleza, v. 16, n. 3, p. 296-305, 2015.

ANTUNES, B.M. *et al.* Physical fitness status modulates the inflammatory proteins in peripheral blood and circulating monocytes: role of PPAR-gamma. **Scientific reports**, London, v. 10, n. 1, p. 14094, 2020.

AWODA, S. *et al.* Coagulation profile of Sudanese children with homozygous sickle cell disease and the effect of treatment with omega-3 fatty acid on the coagulation parameters. **BMC Hematology**, New York, v. 17, n. 1, p. 1–7, 2017.

AZAR, S., WONG, TE. Sickle Cell Disease A Brief Update. **Med Clin North Am**, Amsterdam, v. 101, n. 2, p.375-393, 2017.

BAI, X. *et al.* Polymorphisms of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) and cluster of differentiation 36 (CD36) associated with valproate-induced obesity in epileptic patients. **Psychopharmacology**, San Francisco, v. 235, p. 2665-2673, 2018.

BALCERZYK, A.; ŻAK, I.; KRAUZE, J. Original article Synergistic effects of apolipoprotein E gene epsilon polymorphism and some conventional risk factors on premature ischaemic heart disease development. **Kardiologia Polska (Polish Heart Journal)**, Warsaw, v. 65, n. 9, p. 1058-1065, 2007.

BALLAS, S.K., *et al.* The prevalence of avascular necrosis in sickle cell anemia: correlation with α -thalassemia, **J. Hemoglobin**, Creteil, p. 649–655, 1989.

BASAK A, A; SANKARAN V.G. Regulation of the fetal hemoglobin silencing factor BCL11A. **Ann N Y Acad Sci**, New York, v. 1368, n. 1, p. 25-30, 2016.

BELANGER, A.J. *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 mediates hypoxia-induced cardiomyocyte lipid accumulation by reducing the DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor α /retinoid X receptor. **Biochemical and biophysical research communications**, Martinsried, v. 364, n. 3, p. 567-572, 2007.

BELCHER, J.D. *et al.* Control of Oxidative Stress and Inflammation in Sickle Cell Disease with the Nrf2 Activator Dimethyl Fumarate. **Antioxid Redox Signal.**, New Rochelle, v. 26, n. 14, p. 748–762, 2017.

BELISÁRIO, A. R. *et al.* Association of alpha-thalassemia, TNF-alpha (-308G>A) and VCAM-1 (c.1238G>C) gene polymorphisms with cerebrovascular disease in a newborn cohort of 411 children with sickle cell anemia. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 54, n. 1, p. 44–50, jan. 2015.

BELISÁRIO, A.R. *et al.* Association of alpha-thalassemia, TNF-alpha (-308GNA) and VCAM-1 (c.1238GNC) gene polymorphisms with cerebrovascular disease in a newborn cohort of 411 children with sickle cell anemia. **Blood Cells, Molecules and Diseases**, Washington, v. 14, p. 102-108, 2014.

BELISÁRIO, A.R. *et al.* Beta-globin Gene Cluster Haplotypes in a Cohort of 221 Children with Sickle Cell Anemia or S β 0-thalassemia and its Association with Clinical and Hematological Features. **Acta Haematol**, Basel, v. 124, n. 3, p. 162-70, 2010a.

BELISÁRIO, A.R. *et al.* Coinheritance of alpha thalassemia decreases the risk of cerebrovascular disease in a cohort of children with sickle cell anemia. **Hemoglobin**, Creteil, v. 34, n. 6, p. 516–529, 2010b.

BELISÁRIO, A.R.; VIANA, M.B. Efeitos da Talassemia Alfa nas manifestações clínicas e hematológicas da Anemia Falciforme: uma revisão sistemática. **Rev Med Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 21, n. 3, p. 319-330, 2011.

BENDER, M. A. Sickle Cell Disease. **GeneReviews®** - NCBI Bookshelf. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK1377/>>. Acesso em: 05 de mai. de 2022.

BERGER, J.; MOLLER, D.E. The mechanisms of action of PPARs. **Annual review of medicine**, Palo Alto, v. 53, n. 1, p. 409-435, 2002.

BERNAUDIN, F., *et al.* Impact of early transcranial Doppler screening and intensive therapy on cerebral vasculopathy outcome in a newborn sickle cell anemia cohort. **Blood**, Washington, v. 117, n. 4, p. 1130–40, 2011.

BERNAUDIN, F., *et al.* Long-term treatment follow-up of children with sickle cell disease monitored with abnormal transcranial Doppler velocities. **Blood**, Washington, v. 127, n. 14, p. 1814–22, 2016.

BHATTACHARYA, P., *et al.* Stroke and stroke prevention in sickle cell anemia in developed and selected developing countries. **J Neurol Sci.**, New Orleans, v. 15, n. 427, p. 117510, 2021.

BISPO, I. M. G. P. *et al.* Clinical and hematological evaluation of patients with sickle cell anemia before and after four years of using Hydroxyurea. **International Archives of Medicine**, London, v. 10, n. 199, p. 1–8, 2017.

BOUHLEL, M.A. *et al.* PPAR γ activation primes human monocytes into alternative M2 macrophages with anti-inflammatory properties. **Cell metabolism**, Maryland Heights, v. 6, n. 2, p. 137-143, 2007.

BRANDOW, A.M; LIEM, R.I. Advances in the diagnosis and treatment of sickle cell disease. **J Hematol Oncol.**, Washington, v. 15, n. 1, p. 20, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Adakveo® (Crizanlizumabe): novo registro**. Publicado em 02/03/2020 00h00. Atualizado em 13/10/2020 12h29. Página inicial. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/novos-medicamentos-e-indicacoes/adakveo-r-crizanlizumabe-novo-registro>>. Acesso em 31 de mar. de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde - CONITEC**. Nova apresentação de medicamento incorporada ao SUS beneficia crianças com doença falciforme. Disponível em: <<https://www.gov.br/conitec/pt-br/assuntos/noticias/2024/marco/nova-apresentacao-de-medicamento-incorporada-ao-sus-beneficia-criancas-com-doenca-falciforme>> acesso em 01/04/2024 b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doença Falciforme - Condutas básicas para o tratamento**. Primeira edição 2013. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca_falciforme_condutas_basicas_tratamento.pdf> acesso em 31 de mar. de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Governo Federal reforça necessidade do diagnóstico precoce da Doença Falciforme**. Publicado em 20/06/2022 12h57, atualizado em 03/11/2022 13h40. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/junho/governo-federal-reforca-necessidade-do-diagnostico-precoce-da-doenca-falciforme#:~:text=No%20Brasil%2C%20entre%202014%20e,cada%2010%20mil%20nascidos%20vivos> Acesso em:13/01/2024 a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de eventos agudos em doença falciforme**. Brasília, 2009. Disponível em: < chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_eventos_agudos_doenca_falciforme.pdf > Acesso em: 05/04/2024.

BRASIL. **Ministério da saúde. Secretaria de atenção à saúde secretaria de ciência, tecnologia e insumos estratégicos. Portaria conjunta nº 05, de 19 de fevereiro de 2018. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/pcdt/arquivos/2018/pcdt_doencafalciforme_2018.pdf/view>. Acesso em: 17 jun. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Atenção Especializada à Saúde**. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Perfil das hemoglobinopatias: doença falciforme: dados 2016 [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção Especializada à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática. – Brasília: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/perfil_hemoglobinopatias_doenca_falciforme_2016.pdf>. Acesso em 06 de jul. de 2023.

BRASIL. **Monitoramento do HORIZONTE TECNOLÓGICO**. Medicamentos para o tratamento de Doença Falciforme. Setembro/2022. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/radar/2022/20221011_mht_doenca-falciforme.pdf >. Acesso em: 20 abr. de 2023.b.

BREWING, J.N. *et al.* The pleiotropic effects of α -thalassemia on HbSS and HbSC sickle cell disease: Reduced erythrocyte cation co-transport activity, serum erythropoietin, and transfusion burden, do not translate into increased survival. **American Journal of Hematology**, Washington, v. 97, n. 10, p. 1275-1285, 2022.

BREWING, J.N., *et al.* Genome wide association study of silent cerebral infarction in sickle cell disease (HbSS and HbSC). **Haematologica.**, Naples v. 106, p. 1770-1773, 2021.

BROUSSEAU, D.C. *et al.* Acute care utilization and rehospitalizations for sickle cell disease. **Jama**, Chicago, v. 303, n. 13, p. 1288-1294, 2010.

- BUNGER, M. *et al.* Genome-wide analysis of PPAR α activation in murine small intestine. **Physiological genomics**, Rockville, v. 30, n. 2, p. 192-204, 2007.
- CAI, G. *et al.* Associations between PPAR γ polymorphisms and the risk of essential hypertension. **PLoS One**, San Francisco, v. 12, n. 7, p. e0181644, 2017.
- CAI, W., *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ): A master gatekeeper in CNS injury and repair. **Prog Neurobiol.**, Houston, v. 163-164, p. 27–58, 2018.
- CAMILO – ARAÚJO, R.F. *et al.* Molecular analysis and association with clinical and laboratory manifestations in children with sickle cell anemia. **Rev bras hematol hemoter**, São Paulo, v. 6, n. 5, p. 334–339, 2014.
- CAMPISTOL, J., *et al.* Neurological dysfunction induced by bilirubin Disfunción neurológica inducida por bilirrubina. **Neurología**, Barcelona, v. 27, n. 4, p. 201-11, 2012.
- CANÇADO, R.D. *et al.* Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para uso de hidroxiureia na doença falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 31, p. 361-366, 2009.
- CANÇADO, R.D. Talassemias alfa. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 28, p. 86-87, 2006.
- CAO, Y. *et al.* Polymorphism of the PPAR δ gene and dynamic balance performance in Han Chinese children. **Hereditas**, London, v. 156, p. 1-9, 2019.
- CAPASSO, S. *et al.* Functional analysis of three new alpha-thalassemia deletions involving MCS-R2 reveals the presence of an additional enhancer element in the 5' boundary region. **PLoS Genetics**, San Francisco, v. 19, n. 5, p. e1010727, 2023.
- CARVALHO, S.C. *et al.* Em busca da equidade no sistema de saúde brasileiro: o caso da doença falciforme. **Saúde Soc.**, São Paulo, v. 23, n. 2, p.711-718, 2014.
- CHARACHE, S, *et al.* Hydroxycarbamide versus chronic transfusion for maintenance of transcranial doppler flow velocities in children with sickle cell anaemia-TCD With Transfusions Changing to Hydroxyurea (TWiTCH): a multicentre, open-label, phase 3, non-inferiority trial. **Lancet**, London, v. 387, n. 10019, p. 661–70, 2016.
- CHARAGE, S. *et al.* Effect of Hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 332, n. 20, p. 1317–1322, 1995.
- CHATURVEDI, S. *et al.* Genome-wide association study to identify variants associated with vaso-occlusive pain in sickle cell anemia. **Blood**, Washington, v. 02, n. 769661, 2017.
- CHEN, Elizabeth Suchi *et al.* Association of PPAR α gene polymorphisms and lipid serum levels in a Brazilian elderly population. **Experimental and molecular pathology**, Amsterdam, v. 88, n. 1, p. 197-201, 2010.

CHEN, L.; YANG, G. PPARs Integrate the Mammalian Clock and Energy Metabolism. **PPAR Res.**, Nanjing, v. 2014, n. 653017, 2014.

CHENG, F. *et al.* Relationship between PPAR- γ gene polymorphisms and ischemic stroke risk: A meta-analysis. **Brain Behav.**, San Diego, v. 11, n. 12, p. e2434, 2021.

CHONG, S.S. *et al.* Simplified Multiplex-PCR Diagnosis of Common Southeast Asian Deletional Determinants of α -Thalassemia. **Clinical Chemistry**, Oxford, v. 46, N. 10, p. 1692- 1695, 2000.

CHRISTOFIDES, A. *et al.* The role of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in immune responses. **Metabolism.**, Naples, v. 114, n. 154338, 2021.

CREEDEN, J.F. *et al.* Bilirubin as a metabolic hormone: The physiological relevance of low levels. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, Rockville, v. 320, n. 2, p. E191-E207, 2021.

CRUZ, N.R.C. *et al.* Lipid profile and nutritional status of a pediatric population with sickle cell anemia: differences between gender and association with severity markers. **Research, Society and Development.**, Vargem Grande Paulista, v. 10, p. e344101018934, 2021.

DANTAS, M.T.; LOPES, A.; LADEIA, A.M.T. Association Between Lipid Profile and Clinical Manifestations in Sickle Cell Anemia: A Systematic Review. **Int J Cardiovasc Sci**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 6, p. 770-779, Aug. 2022.

DARBARI, D.S. *et al.* Markers of severe vaso-occlusive painful episode frequency in children and adolescents with sickle cell anemia. **J. Pediatr**, Porto Alegre, v. 160, p. 286–290, 2012.

DENTON, C.C. *et al.* Loss of alpha-globin genes in human subjects is associated with improved nitric oxide-mediated vascular perfusion. **Am J Hematol.**, Boston, v. 96, n. 3, p.277-281, 2021.

DING, X. *et al.* The impact of PPARD and PPARG polymorphisms on glioma risk and prognosis. **Scientific Reports**, London, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2020.

DING, X.Y. *et al.* The Association of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor δ and Additional Gene-Gene Interaction with C-Reactive Protein in Chinese Population. **Int J Endocrinol.**, London, v. 2016, p.8597085, 2016.

DOMINGOS, I.F., *et al.* Influence of the β s haplotype and α -thalassemia on stroke development in a Brazilian population with sickle cell anaemia. **Ann Hematol**, Austin, v. 93, n. 7, p. 1123-9, 2014.

DRISCOLL, M.C., *et al.* Stroke risk in siblings with sickle cell anemia. **Blood**, Washington, v. 101, n. 6, p. 2401-4, 2003.

DUSZKA, K. *et al.* Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and Caloric Restriction-Common Pathways Affecting Metabolism, Health, and Longevity. **Cells.**, Basel, v. 9, n. 7, 2020.

DUTRA, V.F.; BIASI, T.P.; FIGUEIREDO, M.S. Sick cell anemia: hierarchical cluster analysis and clinical profile in a cohort in Brazil. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, Rio de Janeiro, v. 45, p. 45-51, 2023.

ELLORY, J.C. Haemoglobin C Promotes Distinct Membrane Properties in Heterozygous HbSC red Cells. **EBioMedicine**, Amsterdam, v. 11, n.2, p. 1577, 2015.

EMBURY, S. H. *et al.* Concurrent sickle cell anemia and alpha-thalassemia. Effect on pathological properties of sickle erythrocytes. **The Journal of clinical investigation**, Ann Arbor, v. 73, n. 1, p. 116-123, 1984.

ENSEMBL. VERSÃO 112. **NPRL3 rs11865131**. Disponível em: < https://www.ensembl.org/Human/Search/Results?q=NPRL3%20rs11865131;site=ensembl;facet_species=Human;page=1>. Acesso em: 15 de jul. de 2022c.

ENSEMBL. VERSÃO 112. **PPARA rs4243747**. Disponível em: < https://www.ensembl.org/Human/Search/Results?q=PPARA%20rs4253747;site=ensembl;facet_species=Human>. Acesso em: 15 de jul. de 2022a.

ENSEMBL. VERSÃO 112. **PPARD rs2016520**. Disponível em: < https://www.ensembl.org/Human/Search/Results?q=PPARD%20rs2016520;site=ensembl;facet_species=Human;page=1>. Acesso em: 15 de jul. de 2022d.

ENSEMBL. VERSÃO 112. **PPARG**. Disponível em: < https://www.ensembl.org/Human/Search/Results?q=PPARG;site=ensembl;facet_species=Human;page=1>. Acesso em: 15 de jul. de 2022b.

EPHRAIM, R.K.D. *et al.* Normal Non-HDL Cholesterol, Low Total Cholesterol, and HDL Cholesterol Levels in Sickle Cell Disease Patients in the Steady State: A Case-Control Study of Tema Metropolis. **Journal of lipids**, Rockville, v. 2016, 2016.

FAN, W. *et al.* Association and interaction of PPAR α , δ , and γ gene polymorphisms with low-density lipoprotein-cholesterol in a Chinese Han population. **Genet Test Mol Biomarkers.**, New Rochelle, v. 19, n. 7, p. 379-86, 2015.

FELIX, A.A; SOUZA, H.M; RIBEIRO, S.B.F. Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 203-208, 2010.

FERNANDES, A.P., *et al.* Mortality of children with sickle cell disease: a population study. **J Pediatr**, Porto Alegre, v. 86, n. 4, p. 279-284, 2010.

FERTRIN, K.Y., COSTA, F.F. Genomic polymorphisms in sickle cell disease: implications for clinical diversity and treatment. **Expert Review of Hematology**, London, v. 3, n. 4, p. 443–458, 2010.

FIGUEIREDO, L. *et al.* An age dependent response to hydroxyurea in pediatric sickle cell anemia patients with alpha thalassemia trait. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, Washington, v. 66, p. 19-23, 2017.

GALLICCHIO, L. *et al.* Genetic polymorphisms of peroxisome proliferator-activated receptors and the risk of cardiovascular morbidity and mortality in a community-based

cohort in washington county, Maryland. **PPAR Res.**, Nanjing, v. 2008, n. 276581, 2008.

GENECARDS®: THE HUMAN GENE DATABASE. Versão 5.10. **NPRL3 rs11865131**. Disponível em: <[https://www.genecards.org/Search/Keyword?queryString=NPRL3% 20rs11865131](https://www.genecards.org/Search/Keyword?queryString=NPRL3%20rs11865131)>. Acesso em: 01 de jul. de 2022c.

GENECARDS®: THE HUMAN GENE DATABASE. Versão 5.10. **PPARA rs4253747**. Disponível em: <[https://www.genecards.org/Search/Keyword?queryString=PPARA% 20rs4253747](https://www.genecards.org/Search/Keyword?queryString=PPARA%20rs4253747)>. Acesso em: 01 de jul. de 2022a.

GENECARDS®: THE HUMAN GENE DATABASE. Versão 5.10. **PPARD rs2016520**. Disponível em: <[https://www.genecards.org/Search/Keyword?queryString=PPARD% 20rs2016520](https://www.genecards.org/Search/Keyword?queryString=PPARD%20rs2016520)>. Acesso em: 01 de jul. de 2022d.

GENECARDS®: THE HUMAN GENE DATABASE. Versão 5.10. **PPARG**. Disponível em: <<https://www.genecards.org/Search/Keyword?queryString=PPARG>>. Acesso em: 01 de jul. de 2022b.

GHAZI, A.R. *et al.* Bayesian modelling of high-throughput sequencing assays with malacoda. **PLoS Comput Biol.**, San Francisco, v. 16, n. 7, p. e1007504, 2020.

GIARDINE, B., *et al.* Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 42, n. 1, p. 1063–1069, 2014.

GILLI, S.C.O., *et al.* LDH and age are associated with hemolysis-endothelial dysfunction in HbSC patients. **Blood Cells, Molecules and Diseases**, Washington, v. 59, p. 119–123, 2016.

GONSALVES, C.S. *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor- α -mediated transcription of miR-301a and miR-454 and their host gene SKA2 regulates endothelin-1 and PAI-1 expression in sickle cell disease. **Biosci Rep.**, London, v. 35, n. 6, p. e00275, 2015.

GORDON, D.M. *et al.* Bilirubin remodels murine white adipose tissue by reshaping mitochondrial activity and the coregulator profile of peroxisome proliferator-activated receptor α . **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 295, n. 29, p. 9804-9822, 2020.

GORDON, D.M. *et al.* Identification of binding regions of bilirubin in the ligand-binding pocket of the peroxisome proliferator-activated receptor-A (PPAR α). **Molecules**, Basel, v. 26, n. 10, p. 2975, 2021.

GRAHAM, S.E. *et al.* The power of genetic diversity in genome-wide association studies of lipids. **Nature**, New York, v. 600, n. 7890, p. 675-679, 2021.

GUIGNABERT, C, *et al.* Tie2-mediated loss of peroxisome proliferator-activated receptor- γ in mice causes PDGF receptor- β -dependent pulmonary arterial

muscularization. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, Rockville, 297: L1082–L1090, 2009.

HABARA, A; STEINBERG, M.H. Minireview: Genetic basis of heterogeneity and severity in sickle cell disease. **Exp Biol Med.**, Washington, v. 241, n. 7, p. 689-96, 2016.

HAI, B. *et al.* Gene-Gene Interactions among Ppara α / δ / γ Polymorphisms for Apolipoprotein (Apo) A-I/Apob Ratio in Chinese Han Population. **Iran J Public Health.**, Tehran, v. 43, n. 6, p. 749-59, 2014.

HANSMANN, G, *et al.* An antiproliferative BMP-2/PPAR γ /apoE axis in human and murine SMCs and its role in pulmonary hypertension. **J Clin Invest**, Atlantic, 118:1846–1857, 2008.

HARIHARAN, P. *et al.* Significance of genetic modifiers of hemoglobinopathies leading towards precision medicine. **Sci Rep.**, London, v. 11, n. 1, p. 20906, 2021.

HATZLHOFER, B.L.D. *et al.* Alpha thalassemia, but not β S-globin haplotypes, influence sickle cell anemia clinical outcome in a large, single-center Brazilian cohort. **Ann Hematol.**, Austin, v. 100, n. 4, p. 921-931, 2021.

HAY, D. *et al.* Genetic dissection of the α -globin super-enhancer in vivo. **Nat Genet.**, New York, v. 48, n. 8, p. 895-903, 2016.

HAY, D., ATOYEBI, W. Update on sickle cell disease. **British Journal of Hospital Medicine**, v. 77, N. 4, p. C55-C59, 2016.

HEBBEL, R.P., OSAROGIAGBON, R., KAUL, D. The Endothelial Biology of Sickle Cell Disease: Inflammation and a Chronic Vasculopathy. **Microcirculation**, New York, v. 11, p.129–151, 2004.

HEMING, M, *et al.* Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Modulates the Response of Macrophages to Lipopolysaccharide and Glucocorticoids. **Frontiers in Immunology**, Lausanne, 9:893, 2018.

HIGGS, D.R.; WOOD, W.G. Long-range regulation of α globin gene expression during erythropoiesis. **Current opinion in hematology**, Ontario, v. 15, n. 3, p. 176-183, 2008b.

HIGGS, D.R; WOOD, W.G. Genetic complexity in sickle cell disease. **Proc Natl Acad Sci**, Washington, v. 105, n. 33, p. 11595–11596, 2008a.

HOLICK, M. F.; TIAN, X. Q.; ALLEN, M. Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D₃ in the skin of poikilothermic animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington DC, v. 92, n. 8, p. 3124–6, 1995.

HOPPE, C. *et al.* Confirmation of an association between the TNF (-308) promoter polymorphism and stroke risk in children with sickle cell anemia. **Stroke**, Dallas, v. 38, n. 8, 2241–6, 2007.

- HSU, L.L., *et al.* Alpha Thalassemia is associated with decreased risk of abnormal transcranial Doppler ultrasonography in children with sickle cell anemia. **J Pediatr Hematol Oncol**, Washington, v. 25, n. 8, p. 622-8, 2003.
- HU, J.; GAO, J.; LI, J. Sex and age discrepancy of HbA1c and fetal hemoglobin determined by HPLC in a large Chinese Han population: 利用 HPLC 法测定大样本量中国汉族人群糖化血红蛋白与胎儿血红蛋白的性别和年龄差异. **Journal of diabetes, Shanghai**, v. 10, n. 6, p. 458-466, 2018.
- HUANG, Y. *et al.* PPAR δ rs2016520 polymorphism and circulating lipid levels connect with brain diseases in Han Chinese and suggest sex-dependent effects. **Biomed Pharmacother.**, Paris, v. 70, p. 7-11, 2015.
- HUANG, Y.-M. *et al.* Haplotype of ESR1 and PPAR δ Genes Is Associated with Higher Anthropometric Changes in Han Chinese Obesity by Adjusting Dietary Factors—An 18-Month Follow-Up. **Nutrients**, Basel, v. 14, n. 20, p. 4425, 2022.
- HUTTER, S. *et al.* The role of PPARs in placental immunology: a systematic review of the literature. **PPAR research**, Nanjing, v. 2013, 2013.
- IUGHETTI, L.; BIGI, E.; VENTURELLI, D. Novel insights in the management of sickle cell disease in childhood. **World journal of clinical pediatrics**, Zhejiang, v. 5, n. 1, p. 25–34, 8 fev. 2016.
- JADHAV, A. J. *et al.* Haematological profile of adult sickle cell disease patients in North Maharashtra. **Walawalkar International Medical Journal**, Maharashtra, v. 3, n. 1, p. 28–36, 2016.
- JANG, A.J. *et al.* PPAR γ increases HUWE1 to attenuate NF- κ B/p65 and sickle cell disease with pulmonary hypertension. **Blood Adv.** Washington, v. 5, n. 2, p. 399-413, 2021.
- JANUÁRIO, J.N. **Incidência da doença falciforme em um milhão de nascidos vivos em Minas Gerais (1998-2001)**. Dissertação (Mestrado em Pediatria) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, p. 124. 2002.
- JOLY, P. *et al.* G6PD deficiency and absence of α -thalassemia increase the risk for cerebral vasculopathy in children with sickle cell anemia. **Eur J Haematol**, Cologne, v. 96, n. 4, p. 404-8, 2016.
- KALRA, V.K. *et al.* Placenta growth factor mediated gene regulation in sickle cell disease. **Blood Rev.** Washington, v. 32, n. 1, p. 61-70, 2018.
- KANG, B.Y. *et al.* Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Regulates the V-Ets Avian Erythroblastosis Virus E26 Oncogene Homolog 1/microRNA-27a Axis to Reduce Endothelin-1 and Endothelial Dysfunction in the Sickle Cell Mouse Lung. **Am J Respir Cell Mol Biol.**, New York, v. 56, n. 1, p. 131-144, 2017.
- KANG, B.Y. *et al.* The PPAR γ ligand rosiglitazone attenuates hypoxia-induced endothelin signaling in vitro and in vivo. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.**, Rockville, v. 301, p. 6, p, L881-91, 2011.

- KASSIM, A.A. *et al.* Silent cerebral infarcts and cerebral aneurysms are prevalent in adults with sickle cell anemia. **Blood**, Washington, v. 127, n. 16, p.2038–2040 2016.
- KATO, G.J; GLADWIN, M.T; STEINBERG, M.H. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. **Blood Rev**, Washington, v. 21, n. 1, p. 37-47, 2007.
- KATO, GJ; STEINBERG, MH; GLADWIN, MT. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. **The Journal of clinical investigation**, Ann Arbor, v. 127, n. 3, p. 750-760, 2017.
- KEIKHAEI, B.; YOUSEFI, H.; BAHADORAM, M. Hydroxyurea: clinical and hematological effects in patients with sickle cell anemia. **Global Journal of Health Science**, Ottawa, v. 8, n. 3, p. 252, 2015.
- KERSTEN, S.; STIENSTRA, R. The role and regulation of the peroxisome proliferator activated receptor alpha in human liver. **Biochimie.**, Paris, v. 136, p. 75-84, 2017.
- KESSE-ADU, R., HOWARD, J. Inherited anaemias: sickle cell and thalassaemia. **Medicine**, Amsterdam, v. 41, n. 4, p. 219-224, 2013.
- KIM, EK, *et al.* Rosiglitazone attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension in rats. **Respirology**, New Jersey,15:659–668, 2010.
- KOMATSU, D. E.; HADJIARGYROU, M. Activation of the transcription factor HIF-1 and its target genes, VEGF, HO-1, iNOS, during fracture repair. **Bone**, Melbourne, v. 34, n. 4, p. 680-688, 2004.
- KOTA, B.P; HUANG, T.H; ROUFOGALIS, B.D. An overview on biological mechanisms of PPARs. **Pharmacological research**, Milano, v. 51, n. 2, p. 85-94, 2005.
- KUTLAR, A. Sickle Cell Disease: A Multigenic Perspective of a Single-Gene Disorder. **Med Princ Pract**, Basel, v.14, n.1, p. 15 –19,2005.
- KYTIKOVA, O.Y. *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptors as a therapeutic target in asthma. **PPAR research**, Nanjing, v. 2020, 2020.
- LABIE, D., *et al.* Common haplotype dependency of high G gamma-globin gene expression and high Hb F levels in beta-thalassemia and sickle cell anemia patients. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 82, p. 2111–2114, 1985.
- LALANNE-MISTRIH, M.L. *et al.* Lipid profiles in French West Indies sickle cell disease cohorts, and their general population. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 38, 2018.
- LAND, V.V.L., *et al.* Markers of endothelial dysfunction differ between subphenotypes in children with sickle cell disease. **Thrombosis Research**, Elmsford, v. 132, n. 2013, p. 712–717, 2013.

LEMAITRE, R.N. *et al.* Genetic loci associated with circulating levels of very long-chain saturated fatty acids [S]. **Journal of lipid research**, Rockville, v. 56, n. 1, p. 176-184, 2015.

LEMOS, C.G, GUERREIRO, J.F Molecular characterization of sickle cell anemia in the Northern Brazilian state of Pará. **Am J Hum Biol**, Evanston, v. 22, n. 5, p. 573-7, 2010.

LEOŃSKA-DUNIEC, A. *et al.* The polymorphisms of the PPAR δ gene modify post-training body mass and biochemical parameter changes in women. **PLoS One**, San Francisco, v. 13, n. 8, p. e0202557, 2018.

LETTRE, G. *et al.* DNA polymorphisms at the BCL11A, HBS1L-MYB, and beta-globin loci associate with fetal hemoglobin levels and pain crises in sickle cell disease **Proc Natl Acad Sci U S A**, Washington, v. 105, p. 11869-11874, 2018.

LETTRE, G., *et al.* DNA polymorphisms at the BCL11A, HBS1L-MYB, and beta-globin loci associate with fetal hemoglobin levels and pain crises in sickle cell disease **Proc Natl Acad Sci U S A**, Washington, v. 105, p. 11869-11874, 2018.

LETTRE, G; BAUER D.E. Fetal haemoglobin in sickle-cell disease: from genetic epidemiology to new therapeutic strategies. **Lancet**, London, v. 387, n. 10037, p. 2554-64, 2016.

LEUNG, C. *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene variants modify human airway and systemic responses to indoor dibutyl phthalate exposure. **Respiratory Research**, Saarland, v. 23, n. 1, p. 248, 2022.

LI, C. *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor- α -mediated transcription of miR-199a2 attenuates endothelin-1 expression via hypoxia-inducible factor-1 α . **J Biol Chem**, Rockville, 289:36031–36047, 2014.

LI, S. *et al.* C Allele of the PPAR δ + 294T> C Polymorphism Confers a Higher Risk of Hypercholesterolemia, but not Obesity and Insulin Resistance: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Hormone and Metabolic Research**, Stuttgart, 2023.

LI, T. *et al.* PPARG polymorphisms are associated with unexplained mild vision loss in patients with type 2 diabetes mellitus. **Journal of Ophthalmology**, San Francisco, v. 2019, 2019.

LI, W. *et al.* Association of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene polymorphisms and gene-gene interaction with asthma risk in a Chinese adults population. **Int J Clin Exp Med.**, Madison, v. 8, n. 10, p.19346-52, 2015.

LI, Z. *et al.* PPAR γ alleviates sepsis-induced liver injury by inhibiting hepatocyte pyroptosis via inhibition of the ROS/TXNIP/NLRP3 signaling pathway. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, London, v. 2022, 2022.

LIU, J., *et al.* Bilirubin increases insulin sensitivity by regulating cholesterol metabolism, adipokines and PPAR γ levels. **Scientific reports**, London, v. 5, n. (1), p.9886, 2015.

- LIU, L., *et al.* Original Research: A case-control genome-wide association study identifies genetic modifiers of fetal hemoglobin in sickle cell disease. **Experimental Biology and Medicine**, Washington, v. 241, n. 7, p. 706-718, 2016.
- LIU, Y. *et al.* Increased expression of PPAR- γ modulates monocytes into a M2-like phenotype in SLE patients: an implicative protective mechanism and potential therapeutic strategy of systemic lupus erythematosus. **Frontiers in Immunology**, Lausanne, v. 11, p. 579372, 2021.
- LOBO, C.L.C., *et al.* Brazilian Guidelines for transcranial doppler in children and adolescents with sickle cell disease. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, São Paulo, v. 33, p. 43-48, 2011.
- LOBO, C.L.C., *et al.* Mortality in children, adolescents and adults with sickle cell anemia in Rio de Janeiro, Brazil. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, Rio de Janeiro, v. 40, p. 37-42, 2018.
- LU, H. *et al.* Enhancer polymorphism rs10865710 associated with traumatic sepsis is a regulator of PPARG gene expression. **Crit Care.**, Bruxelles, v. 23, n. 1, p. 430, 2019.
- LU, H. *et al.* Polygenic risk score for early prediction of sepsis risk in the polytrauma screening cohort. **Frontiers in Genetics**, Lausanne, v. 11, p. 545564, 2020.
- LU, X. *et al.* Hypoxia downregulates PPAR γ via an ERK1/2-NF- κ B-Nox4-dependent mechanism in human pulmonary artery smooth muscle cells. **Free Radic Biol Med.**, Indianapolis, v. 63, p. 151-60, 2013.
- LUO, B. *et al.* Intratumoral polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor delta-87 T> C in colorectal cancer. **Neoplasma**, Bratislava, v. 66, n. 4, p. 609-618, 2019.
- LUX, S.E., JOHN, K.M., KARNOVSKY, M.J. Irreversible Deformation of the Spectrin-Actin Lattice in Irreversibly Sickled Cells. **The Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 58, p. 955-963, 1976.
- MACARI, E.R; LOWREY, C.H. Induction of human fetal hemoglobin via the NRF2 antioxidant response signaling pathway. **Blood**, Washington, 117: 5987–5997, 2011.
- MACIEJEWSKA-SKRENDÓ, A. *et al.* The polymorphisms of the peroxisome-proliferator activated receptors' α gene modify the aerobic training induced changes of cholesterol and glucose. **Journal of Clinical Medicine**, Basel, v. 8, n. 7, p. 1043, 2019.
- MAIER-REDELSPERGER, M. *et al.* Fetal Hemoglobin and F-Cell Responses to Long-Term Hydroxyurea Treatment in Young Sickle Cell Patients. **Blood**, Washington, v. 91, n. 12, p. 4472 LP – 4479, 15 jun. 1998.
- MAJMUNDAR, A.J.; WONG, W.J.; SIMON, M.C. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. **Molecular cell**, Philadelphia, v. 40, n. 2, p. 294-309, 2010.
- MAKANI, J. *et al.* Sickle cell disease: new opportunities and challenges in Africa. **The Scientific World Journal**, London, v. 2013, 2013.

MALACARDS: THE HUMAN DISEASE DATABASE. VERSÃO 5.20. **NPRL3 rs11865131**.

<<https://www.malacards.org/search/results?query=NPRL3+gene+&pageSize=25>>. Acesso em: 01 de jul. de 2022c.

MALACARDS: THE HUMAN DISEASE DATABASE. VERSÃO 5.20. **PPARA rs4253747**. Disponível em:

<<https://www.malacards.org/search/results?query=PPARA&pageSize=25>>. Acesso em: 01 de jul. de 2022a.

MALACARDS: THE HUMAN DISEASE DATABASE. VERSÃO 5.20. **PPARD rs2016520**. Disponível em:

<<https://www.malacards.org/search/results?query=PPARD&pageSize=25>>. Acesso em: 01 de jul. de 2022d.

MALACARDS: THE HUMAN DISEASE DATABASE. VERSÃO 5.20. **PPARG**.

Disponível em: <<https://www.malacards.org/search/results?query=PPARG&pageSize=25>>. Acesso em: 01 de jul. de 2022b.

MARTELLI, A. Síntese e metabolismo da bilirrubina e fisiopatologia da hiperbilirrubinemia associados à Síndrome de Gilbert: revisão de literatura. **Revista Médica de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 22, n. 2, p. 216–220, 2012.

MARTINS, P.R.J; MORAES, S.H; SILVEIRA, T.B. Morbimortalidade em doença falciforme. **Rev Bras Hematol Hemoter**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 378-383, 2010.

MATA, A. S. da. Deficiência intelectual: análise da produção científica com base no modelo biomédico e modelo social da deficiência. **Filosofia e Educação**, Campinas, v. 10, n. 2, p. 350–378, 15 out. 2018.

MATTE, A. *et al.* New therapeutic options for the treatment of sickle cell disease. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, Milano, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2019.

MATTE, A. *et al.* New therapeutic options for the treatment of sickle cell disease. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, Milano, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2019.

MCGANN, P.T. Sickle cell anemia: an underappreciated and unaddressed contributor to global childhood mortality. **The Journal of Pediatrics**, New York, v. 165, n. 1, p. 18-22, 2014.

MCRAE, A.F. *et al.* Identification of 55,000 replicated DNA methylation QTL. **Scientific reports**, London, v. 8, n. 1, p. 17605, 2018.

MENZEL, S. *et al.* A QTL influencing F cell production maps to a gene encoding a zinc-finger protein on chromosome 2p15. **Nat Genet.**, New York, v. 39, p. 1197–1199, 2007.

MERA-CHARRIA, A. *et al.* Genetic variant panel allows predicting both obesity risk, and efficacy of procedures and diet in weight loss. **Frontiers in Nutrition**, Lausanne, v. 10, 2023.

- MILTON, J.N. *et al.* A genome-wide association study of total bilirubin and cholelithiasis risk in sickle cell anemia. **PloS one**, San Francisco, v. 7, n. 4, p. e34741, 2012.
- MILTON, J.N. *et al.* Genetic determinants of haemolysis in sickle cell anaemia. **British journal of haematology**, New England, v. 161, n. 2, p. 270-278, 2013.
- MILTON, J.N.; SHAIKHO, E.M.; STEINBERG, M.H. Haemolysis in sickle cell anaemia: effects of polymorphisms in α -globin gene regulatory elements. **Br J Haematol.**, New England, v. 186, n. 2, p. 363-364, 2019.
- MINAS GERAIS. **Fundação Hemominas**. Orientações em caso de urgências – Hemoglobinopatias. Disponível em: <<https://www.hemominas.mg.gov.br/153-atendimento-de-urgencias-aos-pacientes-com-diagnostico-de-coagulopatias-e-hemoglobinopatias-hereditarias/3417-orientacoes-em-caso-de-urgencias-hemoglobinopatias>> acesso em: 05/04/2024.
- MIRANDA, J.A. *et al.* The effects of endothelial nitric oxide synthase tagSNPs on nitrite levels and risk of hypertension and obesity in children and adolescents. **Journal of Human Hypertension**, London, v. 29, p. 109–114, 2015.
- MNIKA, K. *et al.* Effects of Senegal haplotype (Xmn1-rs7412844), alpha-thalassemia (3.7 kb HBA1/HBA2 deletion), NPRL3-rs11248850 and BCL11A-rs4671393 variants on sickle cell nephropathy. **International Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, Madison, v. 13, n. 2, p. 5, 2022.
- MONSALVE F.A. *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor targets for the treatment of metabolic diseases. **Mediators Inflamm.**, London, v. 2013, p. 549627, 2013.
- MOOLI, R.G.R. *et al.* Hypoxia via ERK signaling inhibits hepatic PPAR α to promote fatty liver. **Cellular and molecular gastroenterology and hepatology**, New York, v. 12, n. 2, p. 585-597, 2021.
- MORRIS, C.R., *et al.* Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. **JAMA**, Chicago, v. 294, n. 1, p. 81- 90, 2005.
- NADER, E.; ROMANA, M.; CONNES, P. The red blood cell—inflammation vicious circle in sickle cell disease. **Frontiers in immunology**, Lausanne, v. 11, p. 517556, 2020.
- NAGEL, R.L.; STEINBERG M. H. Role of epistatic (modifier) genes in the modulation of the phenotypic diversity of sickle cell anemia. **Pediatr Pathol Mol Med**, London, v. 20, n. 2, p. 123-36, 2001.
- NAKAYAMA, K.; KATAOKA, N. Regulation of gene expression under hypoxic conditions. **International journal of molecular sciences**, Basel, v. 20, n. 13, p. 3278, 2019.

NATIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE. **Evidence-based management of sickle cell disease: expert panel report, 2014**. Washington. 2014.

NATIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE. **Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report**. Washington. 2012.

NDOUR, E.H.M. *et al.* Biomarkers of sickle cell nephropathy in Senegal. **Plos one**, San Francisco, v. 17, n. 11, p. e0273745, 2022.

NEVITT, S.J; JONES, A.P; HOWARD, J. Hydroxyurea (hydroxycarbamide) for sickle cell disease. **Cochrane Database Syst Rev.**, Chichester, v. 4, n. 4, p. CD002202, 2017.

NISBET, RE, *et al.* Rosiglitazone attenuates chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in a mouse model. **Am J Respir Cell Mol Biol**, New York, 42:482–490, 2010.

OFORI-ACQUAH, S.F. Sickle cell disease as a vascular disorder. **Expert Rev Hematol.**, New York, v. 13, n. 6, p. 645-653. 2020.

OMIM[®]: AN ONLINE CATALOG OF HUMAN GENES AND GENETIC DISORDERS. **HBB rs334**. Disponível em: https://www.omim.org/search?index=entry&start=1&limit=10&sort=score+desc%2C+prefix_sort+desc&search=rs334. Acesso em: 10 de abr. 2022e.

OMIM[®]: AN ONLINE CATALOG OF HUMAN GENES AND GENETIC DISORDERS. **NPRL3 rs11865131**. Disponível em: https://www.omim.org/search?index=entry&start=1&limit=10&sort=score+desc%2C+prefix_sort+desc&search=NPRL3+rs11865131. Acesso em: 05 de jul. de 2022c.

OMIM[®]: AN ONLINE CATALOG OF HUMAN GENES AND GENETIC DISORDERS. **PPARA rs4253747**. Disponível em: https://www.omim.org/search?index=entry&start=1&limit=10&sort=score+desc%2C+prefix_sort+desc&search=PPARA+rs4253747. Acesso em: 05 de jul. de 2022a.

OMIM[®]: AN ONLINE CATALOG OF HUMAN GENES AND GENETIC DISORDERS. **PPARG**. Disponível em: https://www.omim.org/search?index=entry&start=1&limit=10&sort=score+desc%2C+prefix_sort+desc&search=%22pparg%22. Acesso em: 05 de jul. de 2022b.

OMIM[®]: AN ONLINE CATALOG OF HUMAN GENES AND GENETIC DISORDERS. **PPARD rs2016520**. Disponível em: https://www.omim.org/search?index=entry&start=1&limit=10&sort=score+desc%2C+prefix_sort+desc&search=PPARD+rs2016520. Acesso em: 05 de jul. de 2022d.

ORIGASSA, C.S.T.; CÂMARA, N.O.S. Cytoprotective role of heme oxygenase-1 and heme degradation derived end products in liver injury. **World journal of hepatology**, Pleasanton, v. 5, n. 10, p. 541, 2013.

ORKIN, S.H. Recent advances in globin research using genome-wide association studies and gene editing. **Ann N Y Acad Sci**, New York, v. 1368. n. 1, p. 5-10, 2016.

PAN, W. *et al.* Association Between Single Nucleotide Polymorphisms in PPARA and EPAS1 Genes and High-Altitude Appetite Loss in Chinese Young Men. **Front Physiol.**, Lausanne, v. 10, n. 59, 2019.

PANDEY S., *et al.* Genotypic influence of α -deletions on the phenotype of Indian sickle cell anemia patients. **Korean J Hematol**, Seoul, v. 46, n. 3, p. 192-5, 2011.

PAPAGEORGIOU, D.P. *et al.* Simultaneous polymerization and adhesion under hypoxia in sickle cell disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 115, n. 38, p. 9473-9478, 2018.

PECKER, L.H; SCHAEFER, B.A; LUCHTMAN, J.L. Knowledge insufficient: the management of haemoglobin SC disease. **British Journal of Haematology**, New England, v. 176, n. 4, p. 515–526, 2017.

PERELMAN, N. *et al.* Placenta growth factor activates monocytes and correlates with sickle cell disease severity. **Blood**, Washington, 102:1506–1514, 2003.

PERERA, M.A.; INNOCENTI, F.; RATAIN, M.J. Pharmacogenetic testing for uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1 polymorphisms: are we there yet?. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, Lenexa, v. 28, n. 6, p. 755-768, 2008.

PETR, M. *et al.* Association of elite sports status with gene variants of peroxisome proliferator activated receptors and their transcriptional coactivator. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 21, n. 1, p. 162, 2019.

PETR, M. *et al.* The role of peroxisome proliferator-activated receptors and their transcriptional coactivators gene variations in human trainability: a systematic review. **International journal of molecular sciences**, Basel, v. 19, n. 5, p. 1472, 2018.

PHILLIPS, K. *et al.* Hydroxyurea therapy in UK children with sickle cell anaemia: A single-centre experience. **Pediatric Blood and Cancer**, Hoboken, v. 65, n. 2, p. 1–6, 2018.

PIEL, F.B., STEINBERG, M.H., REES, D.C. Sickle Cell Disease. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 377, p. 302-305, 2017.

PLATT, O.S. Preventing Stroke in Sickle Cell Anemia. **N Engl J Med**, Waltham, v. 353, p. 2743-2745, 2005.

PRAHARAJ, D.L.; ANAND, A.C. Sickle hepatopathy. **Journal of Clinical and Experimental Hepatology**, Bhubaneshwar, v. 11, n. 1, p. 82-96, 2021.

QUINN, C.T. Clinical severity in sickle cell disease: the challenges of definition and prognostication. **Experimental Biology and Medicine**, Washington, 241, p. 679–688, 2016.

RAFFIELD, L.M. *et al.* Common α -globin variants modify hematologic and other clinical phenotypes in sickle cell trait and disease. **PLoS Genet.**, San Francisco, v. 14, n. 3, p. e1007293, 2018.

RAHIMI, Z. *et al.* Implications of the genetic epidemiology of globin haplotypes linked to the sickle cell gene in southern Iran. **Human Biology**, Detroit, v. 78, n. 6, p. 719-731, 2006.

RAJ, R. *et al.* Association of polymorphisms of peroxisome proliferator activated receptors in early and late onset of type 2 diabetes mellitus. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, Amsterdam, v. 11, p. S287-S293, 2017.

RAMOS, J.T., *et al.* Mortalidade por doença falciforme em estado do nordeste brasileiro. **R. Enferm. Cent. O. Min**, São João del-Rei, v. 5, n. 2, p. 1604-1612, 2015.

RANKINE-MULLINGS, A.E.; NEVITT, S.J. Hydroxyurea (hydroxycarbamide) for sickle cell disease. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, Chichester, n. 9, p. CD002202, 2022.

REDDY, RC. Immunomodulatory role of PPAR-gamma in alveolar macrophages. **J Investig Med**, Hoboken, v. 56, n. 2, p. 522–7.10.2310, 2008.

REES, D.C., GIBSON, J.S. Biomarkers in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, New England, v. 156, n. 4, p. 433–445, 28 de Nov. de 2011. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2011.08961.x/epdf>. Acesso em: 15 de set. de 2022.

REES, D.C., WILLIAMS, T.N., GLADWIN, M.T. Sickle-cell disease. **Lancet**, London, v. 376, n., p.2018–31, 2010.

REES, D.C; BROUSSE, V.A.M; BREWIN, J.N. Determinants of severity in sickle cell disease. **Blood Rev.** Washington, p. 100983, 2022.

REITER, C.D., *et al.* Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. **Nature medicine**, New York, V. 8, n. 12, p. 1383-1389, 2002.

REMMEL, L. *et al.* The Genetic Basis of Decathlon Performance: An Exploratory Study. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, Philadelphia, v. 37, n. 8, p. 1660-1666, 2023.

REN, J., *et al.* Cardiorespiratory pathogenesis of sickle cell disease in a mouse model. **Scientific Reports.**, London, V. 7, p.8665, 2017.

RENOUX, C. *et al.* Alpha-thalassaemia promotes frequent vaso-occlusive crises in children with sickle cell anaemia through haemorheological changes. **Pediatr Blood Cancer.**, Worcester, v. 64, n. 8, 2017.

REZA-LÓPEZ, S.A. *et al.* Metabolic Biomarkers in Adults with Type 2 Diabetes: The Role of PPAR- γ 2 and PPAR- β/δ Polymorphisms. *Biomolecules*, Madrid, v. 13, n. 12, p. 1791, 2023.

RIGANO, P. *et al.* Real-life experience with hydroxyurea in sickle cell disease: A multicenter study in a cohort of patients with heterogeneous descent. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, Amsterdam, v. 69, p. 82–89, 2018.

ROBERTS-HAREWOOD, M. Inherited haemolytic Anaemias. **Medicine**, Amsterdam, v. 37, n. 3, p. 143-148, 2009.

RODRIGUES, D., *et al.* História da triagem neonatal para doença falciforme no Brasil – capítulo de Minas Gerais. **Rev Med Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 22, n. 1, p. 1-128, 2012.

ROMANA, M., *et al.* Loss of alpha globin genes is associated with improved microvascular function in patients with sickle cell anemia. **Am J Hematol.**, Boston, v. 96, n. 5, p. E165-E168, 2021.

ROSALES-REYNOSO, M. A. *et al.* Protective role of +294 T/C (rs2016520) polymorphism of PPAR δ in Mexican patients with colorectal cancer. **Genet. Mol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 16, p. 1-10, 2017.

RUDKOWSKA, I. *et al.* Gene-diet interactions on plasma lipid levels in the Inuit population. **Br J Nutr.**, Cambridge, v. 109, n.5, p. 953-61, 2013.

RUMANNEY M.B. *et al.* The co-inheritance of alpha-thalassemia and sickle cell anemia is associated with better hematological indices and lower consultations rate in Cameroonian patients and could improve their survival. **PLoS One.**, San Francisco, v. 9, n. 6, p.e100516. 2014.

RUSCICA, M. *et al.* Impact of PPAR-alpha polymorphisms—the case of metabolic disorders and atherosclerosis. **International journal of molecular sciences**, Basel, v. 20, n. 18, p. 4378, 2019.

RYBICKA, M. *et al.* Polymorphisms within DIO2 and GADD45A genes increase the risk of liver disease progression in chronic hepatitis b carriers. **Scientific Reports**, London, v. 13, n. 1, p. 6124, 2023.

RYTER, S. W.; ALAM, J.; CHOI, A. M. K. Heme oxygenase-1 / carbon monoxide : from basic science to therapeutic applications. **Physiological Reviews**, Rockville, v. 86, p. 583–650, 2006.

RYTER, S.W.; CHOI, A.M.K. Targeting heme oxygenase-1 and carbon monoxide for therapeutic modulation of inflammation. **Translational Research**, London, v. 167, n. 1, p. 7-34, 2016.

SABARENSE, A.P. *et al.* Characterization of mortality in children with sickle cell disease diagnosed through the Newborn Screening Program. **J Pediatr**, Porto Alegre, v. 91, n. 3, p. 242-7, 2015.

SALES, R.R. *et al.* Do genetic polymorphisms affect fetal hemoglobin (HbF) levels in patients with sickle cell anemia treated with hydroxyurea? A systematic review and pathway analysis. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v. 12, p. 779497, 2022.

SALES, R.R. *et al.* Functional polymorphisms of BCL11A and HBS1L-MYB genes affect both fetal hemoglobin level and clinical outcomes in a cohort of children with sickle cell anemia. **Annals of Hematology**, Austin, v. 99, n. 7, p. 1453-1463, 2020.

SANKARAN, V.G. *et al.* Modifier genes in Mendelian disorders: the example of hemoglobin disorders. **Ann. N.Y. Acad. Sci**, New York, v. 1214 p. 47–56, 2010.

SANKARAN, V.G.; ORKIN, S.H. The Switch from Fetal to Adult Hemoglobin. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 3, n. 1, p. a011643–a011643, 2013.

SCHECHTER, A.N. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. **Blood**, Washington, v. 112, n. 10, p. 3927-3938, 2008.

SCHEINFELDT, L.B. *et al.* Genetic adaptation to high altitude in the Ethiopian highlands. **Genome biology**, London, v. 13, p. 1-9, 2012.

SCHUCHARD, S. B. *et al.* Hydroxyurea use in young infants with sickle cell disease. **Pediatric Blood & Cancer**, Chicago, v. 0, n. 0, p. e27650, 7 fev. 2019.

SEIXAS, M.O. *et al.* Levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) among children with steady-state sickle cell disease. **Lipids Health Dis**, Federal Way, v. 9, p. 91, 2010.

SERJEANT, G.R.; VICHINSKY, E. Variability of homozygous sickle cell disease: The role of alpha and beta globin chain variation and other factors. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, Washington, v. 70, p. 66-77, 2018.

SHAH, R.; TABORDA, C.; CHAWLA, S. Acute and chronic hepatobiliary manifestations of sickle cell disease: A review. **World journal of gastrointestinal pathophysiology**, New York, v. 8, n. 3, p. 108, 2017.

SHEN, Y. *et al.* Association of EPAS1 and PPARA Gene Polymorphisms with High-Altitude Headache in Chinese Han Population. **BioMed Research International**, London, v. 2020, 2020.

SHORES, J., *et al.* Reduced cholesterol levels in African-American adults with sickle cell disease. **J Natl Med Assoc**, Silver Spring, v. 95, n. 9, p. 813-7, 2003.

SIL, S.; COHEN, L.L.; DAMPIER, C. Psychosocial and functional outcomes in youth with chronic sickle cell pain. **The Clinical journal of pain**, Philadelphia, v. 32, n. 6, p. 527-533, 2016.

SILVA, C.M; GIOVANI, P; VIANA, M.B. High reticulocyte count is an independent risk factor for cerebrovascular disease in children with sickle cell anemia. **Pediat Blood Cancer**, Worcester, v. 56, n. 1, p. 116-21, 2011.

SILVA, H.D. *et al.* Anemia falciforme e seus aspectos psicossociais: o olhar do doente e do cuidador familiar. **Rev. Cuid**, Santander, v. 4, n. 1, p. 475-83, 2013.

- SIMONSON, Tatum S. *et al.* Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet. **Science**, Washington, v. 329, n. 5987, p. 72-75, 2010.
- SINGH, S., *et al.* Nrf2-ARE stress response mechanism: a control point in oxidative stress-mediated dysfunctions and chronic inflammatory diseases. **Free Radic Res**. London, v. 44, p. 1267–1288, 2010.
- SINHA, R. *et al.* Leveraging genomic associations in precision digital care for weight loss: cohort study. **Journal of Medical Internet Research**, Toronto, v. 23, n. 5, p. e25401, 2021.
- SMITH, E.C.; ORKIN, S.H. Hemoglobin genetics: recent contributions of GWAS and gene editing. **Human molecular genetics**, Oxford, v. 25, n. R2, p. R99-R105, 2016.
- SOARES, A. C. N. *et al.* Follow-up of children with hemoglobinopathies diagnosed by the Brazilian Neonatal Screening Program in the State of Pernambuco. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 36, p. 250–255, 2014.
- SOLDIN, S.J.; BRUGNARA, C.; WONG, E.C. Pediatric Reference Ranges, **AACC Press**, Washington, 5ª edição, p. 42-43, 2005. *Apud* LABTEST DIAGNÓSTICA S.A. **Bilirrubina -Instruções de uso**. Lagoa Santa, 2014.
- SONG, J. *et al.* Effects of PPAR δ gene variants on the therapeutic responses to exenatide in chinese patients with type 2 diabetes mellitus. **Frontiers in Endocrinology**, Lausanne, v. 13, 2022b.
- SONG, Q. *et al.* Dissecting intratumoral myeloid cell plasticity by single cell RNA-seq. **Cancer medicine**, New York, v. 8, n. 6, p. 3072-3085, 2019.
- SONG, Y. *et al.* rs10865710 polymorphism in *PPARG* promoter is associated with the severity of type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease in a Chinese population. **Postgrad Med J.**, Oxford, v. 98, n. 1164, p. 778-787, 2022a.
- SONG, Y.; LI, S.; HE, C. PPAR γ Gene Polymorphisms, Metabolic Disorders, and Coronary Artery Disease. **Front Cardiovasc Med**. Lausanne, v. 9, n. 808929, 2022.
- STAMATOYANNOPOULOS, G *et al.* Hb F production in stressed erythropoiesis: observations and kinetic models. **Ann N Y Acad Sci.**, New York, v. 445, p. 188-197, 1985.
- STEINBERG, M.H *et al.* Sickle cell disease in the era of precision medicine: looking to the future. **Expert Rev Precis Med Drug Dev.**, London, v. 4, n. 6, p. 357-367. 2019.
- STEINBERG, M.H. Genetic etiologies for phenotypic diversity in sickle cell anemia. **The Scientific World Journal**, London, v. 18, p. 46–67, 2009.
- STEINBERG, M.H. Sickle cell anemia, the first molecular disease: overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. **The Scientific World Journal**, London, v. 8, p. 1295-1324, 2008.
- STEINBERG, M.H.; SEBASTIANI, P. Genetic Modifiers of Sickle Cell Disease **Am J Hematol**, Boston, v. 87, n. 8, p. 795–803, 2012.

STEINBERG, M.H; EMBURY S.H. Alpha-thalassemia in blacks: genetic and clinical aspects and interactions with the sickle hemoglobin gene. **Blood**, Washington, v. 68, p. 985–90, 1986.

STEINBERG, M.H; SEBASTIANI, P. Genetic Modifiers of Sickle Cell Disease **Am J Hematol**, Boston, v. 87, n. 8, p. 795–803, 2012.

STOJANOVIC, S.K; LIONNET, F. Lactate dehydrogenase in sickle cell disease. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 458, p. 99-102, 2016.

STUART, M.J.; NAGEL, R.L. Sickle-cell disease. **Lancet**, London, v. 364, n. 9442, p. 1343-60, 2004.

SUMMARELL, C.C., SHEEHAN, V.A. Original Research: Use of hydroxyurea and phlebotomy in pediatric patients with hemoglobin SC disease. **Exp Biol Med**, Washington, v.241, n. 7, p.737-44, 2016.

SWITZER, J.A. *et al.* Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future. **Lancet Neurol**, London, v. 5, p. 501–512, 2006.

TAN, A.S., *et al.* A rapid and reliable 7-deletion multiplex polymerase chain reaction assay for alpha-thalassemia. **Blood**, Washington, v. 98, n. 1, p. 250-1, 2001.

TANG, L. *et al.* PPAR α rs2016520 polymorphism is associated with metabolic traits in a large population of Chinese adults. **Gene**, Bern, v. 585, n. 2, p. 191-5, 2016.

TARER V. *et al.* Sickle cell anemia in Guadeloupean children: pattern and prevalence of acute clinical events. **Eur J Haematol**, Cologne, v.76, n. 3, p. 193-9, 2006.

TEIXEIRA, R. S. *et al.* Higher values of triglycerides:HDL-cholesterol ratio hallmark disease severity in children and adolescents with sickle cell anemia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 52, n. 10, p. e8833, 2019.

TEIXEIRA, R.S. *et al.* Associations between endothelial dysfunction and clinical and laboratory parameters in children and adolescents with sickle cell anemia. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 12, n. 9, p. e0184076, 2017.

TEWARI, S. *et al.* Environmental determinants of severity in sickle cell disease. **Haematologica**, Naples, v. 100, n. 9, p. 1108-116, 2015.

THE HUMAN GENETICS AMPLIFIER (HuGeAMP). **PPARA rs709158**. Disponível em: <<https://hugeamp.org/>>. Acesso em 23 jun. 2024a.

THE HUMAN GENETICS AMPLIFIER (HuGeAMP). **PPARG rs10865710**. Disponível em: <<https://hugeamp.org/>>. Acesso em 23 jun. 2024b.

THEIN, S.L. *et al.* Control of fetal hemoglobin: new insights emerging from genomics and clinical implications. **Human molecular genetics**, Oxford, v. 18, n. R2, p. R216-R223, 2009.

- THOMAS, D.T. *et al.* Reactive oxygen species (ROS) and antioxidants as immunomodulators in exercise: Implications for heme oxygenase and bilirubin. **Antioxidants**, Basel, v. 11, n. 2, p. 179, 2022.
- THORNBURG, C.D. *et al.* Impact of hydroxyurea on clinical events in the BABY HUG trial. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, Washington, v. 120, n. 22, p. 4304-4310, 2012.
- TOLEDO, S.L.O *et al.* Sickle cell disease: Hemostatic and inflammatory changes, and their interrelation. **Clin Chim Acta.**, Amsterdam, v. 493, p. 129-137. 2019.
- TORAL, M *et al.* Chronic peroxisome proliferator-activated receptor β/δ agonist GW0742 prevents hypertension, vascular inflammatory and oxidative status, and endothelial dysfunction in diet induced obesity. **Journal of Hypertension**, London, 33(9):1831–1844, 2015.
- TSHILOLO, L. *et al.* Hydroxyurea for children with sickle cell anemia in Sub-Saharan Africa. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 380, n. 2, p. 121–131, 2019.
- VALENTE-FROSSARD, T.N.S *et al.* Polymorphisms in genes that affect the variation of lipid levels in a Brazilian pediatric population with sickle cell disease: rs662799 APOA5 and rs964184 ZPR1. **Blood Cells Molecules and Diseases**, Washington, v. 80, p. 102401, 2020.
- VICHINSKY, E. New therapies in sickle cell disease. **The Lancet**, London, v. 360, n. 9333, p. 629-631, 2002.
- VÍTEK, L. Bilirubin as a signaling molecule. **Medicinal research reviews**, Durham, v. 40, n. 4, p. 1335-1351, 2020.
- VOHL, M.-C. *et al.* Molecular scanning of the human PPAR α gene: association of the L162V mutation with hyperapobetalipoproteinemia. **Journal of lipid research**, Rockville, v. 41, n. 6, p. 945-952, 2000.
- VUREN, A.J.V.*et al.* A unique monocyte transcriptome discriminates sickle cell disease from other hereditary hemolytic anemias and shows the particular importance of lipid and interferon signaling. **Hemasphere**, Den Haag, v. 5, n. 3, p. e531, 2021.
- WAGNER, E.R. *et al.* Therapeutic implications of PPAR γ in human osteosarcoma. **PPAR research**, Nanjing, v. 2010, n. 1, p. 956427, 2010.
- WALLNER, M., *et al.* Protection from age-related increase in lipid biomarkers and inflammation contributes to cardiovascular protection in Gilbert's syndrome. **Clinical Science**, Portland, v. 125, n.5, p. 257-264, 2013.
- WANG, T. *et al.* PPARD rs2016520 (T/C) and NOS1AP rs12742393 (A/C) polymorphisms affect therapeutic efficacy of nateglinide in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. **BMC Medical Genomics**, London, v. 14, n. 1, p. 1-8, 2021.
- WANG, W. C. *et al.* Effect of hydroxyurea on growth in children with sickle cell anemia: Results of the HUG-KIDS Study. **The Journal of Pediatrics**, New York, v. 140, n. 2, p. 225-9, 2002.

- WANG, Y. *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor γ inhibits pulmonary hypertension targeting store-operated calcium entry. **Journal of molecular medicine**, Bad Honnef, v. 93, p. 327-342, 2015.
- WASTNEDGE, E., *et al.* The global burden of sickle cell disease in children under five years of age: a systematic review and meta-analysis. **J Glob Health**, Edinburgh, v. 8, n. 2, p. 021103, 2018.
- WAZA, A. A. *et al.* A review on heme oxygenase-1 induction: is it a necessary evil. **Inflammation Research**, Berlin, v. 67, n. 7, p. 579–588, 2018.
- WEATHERALL, D.J. The challenge of haemoglobinopathies in resource-poor countries. **Br J Haematol**, New England, v. 154, n. 6, p. 736–744, 2011.
- WILLER, C.J. *et al.* Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. Global Lipids Genetics Consortium. **Nature genetics**, New York, v. 45, n. 11, p. 1274-1283, 2013.
- WILLIAMS, T.N.; THEIN, S.L. Sickle cell anemia and its phenotypes. **Annual review of genomics and human genetics**, San Mateo, v. 19, p. 113-147, 2018.
- YANG, W. *et al.* Association of peroxisome proliferator-activated receptor delta and additional gene–smoking interaction on cardiovascular disease. **Clinical and Experimental Hypertension**, London, v. 39, n. 2, p. 114-118, 2017.
- YE, H.D. *et al.* Positive association between PPAR α rs2016520 polymorphism and coronary heart disease in a Han Chinese population. **Genet Mol Res.**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 2, p. 6350-9, 2015.
- YUAN, M. *et al.* Genetic associations between gene polymorphisms on 3p25 and oral squamous cell carcinoma. **Oral Diseases**, Oxford, 2023.
- ZAGO, M.A.; PINTO, A.C.S. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 207-214, 2007.
- ZHANG, D., *et al.* Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. **Blood**, Washington, v. 127, n. 7, p.801-9, 2016.
- ZHANG, M, *et al.* Emerging roles of Nrf2 and phase II antioxidant enzymes in neuroprotection. **Progress in neurobiology**, Houston, v. 100, p. 30-47, 2013.
- ZHANG, X. *et al.* Gene-gene interaction between PPAR γ and CYP1A1 gene on coronary artery disease in the Chinese Han Population. **Oncotarget**, Orchard Park, v. 8, n. 21, p. 34398, 2017.
- ZHANG, Y.; WANG, Z.; MA, T. Associations of Genetic Polymorphisms Relevant to Metabolic Pathway of Vitamin D3 with Development and Prognosis of Childhood Bronchial Asthma. **DNA Cell Biol.**, New Rochelle, v. 36, n. 8, p. 682-692, 2017.
- ZHENG, X. *et al.* Contribution of gene polymorphisms on 3p25 to salivary gland carcinoma, ameloblastoma, and odontogenic keratocyst in the Chinese Han

population. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, New York, 2023.

ZHOU, X. *et al.* PPAR α -UGT axis activation represses intestinal FXR-FGF15 feedback signalling and exacerbates experimental colitis. **Nature communications**, New York, v. 5, n. 1, p. 4573, 2014.

ZINGARELLI, B. *et al.* Peroxisome Proliferator-Activated Receptor δ Regulates Inflammation via NF- κ B Signaling in Polymicrobial Sepsis. **Am J Pathol**, New York, 177:1834–1847, 2010.

ZORCA, S. *et al.* Lipid levels in sickle-cell disease associated with hemolytic severity, vascular dysfunction and pulmonary hypertension. **British Journal of Haematology**, New England, v. 149, n. 3, p. 436–445, 2010.

APÊNDICE A

Tabela de análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos por idade e terapia com HU. Em geral, em todas as faixas etárias o uso da HU traz benefícios com melhoria dos parâmetros hematológicos e bioquímicos (Tabela 49).

Tabela 49 - Análises descritivas e de associação entre as variáveis hematológicas e bioquímicas dos grupos por idade e terapia com HU

Variáveis	Meses	NHU		HU		p	Efeito
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		d
Hematológicas							
Hb (g/dL)	< 144	23	7,77 (1,63)	30	8,25 (1,09)	0,086 ²	-0,346
	≥ 144	27	8,09 (1,02)	30	8,89 (1,47)	0,022¹	-0,632
	Todos	50	7,95 (1,33)	60	8,57 (1,32)	0,015¹	-0,468
Ht (%)	< 144	23	23,45 (4,74)	30	25,17 (3,23)	0,122 ¹	-0,424
	≥ 144	27	23,71 (3,05)	30	26,85 (4,39)	0,003¹	-0,831
	Todos	50	23,92 (3,88)	60	26,01 (3,92)	0,002¹	-0,536
HCM (pg)	< 144	23	28,73 (3,14)	30	31,31 (3,81)	0,011 ¹	-0,739
	≥ 144	27	32,51 (12,22)	30	34,60 (3,61)	<0,001²	-0,232
	Todos	50	30,77 (9,35)	60	32,96 (4,04)	<0,001²	-0,304
VCM (fL)	< 144	23	86,97 (7,58)	30	95,35 (9,48)	0,001 ¹	-0,976
	≥ 144	27	91,49 (8,18)	30	104,63 (9,92)	<0,001¹	-1,445
	Todos	50	89,41 (8,15)	60	99,99 (10,7)	<0,001¹	-1,112
HbF (%)	< 144	16	11,74 (7,78)	28	14,91 (13,71)	0,542 ²	-0,284
	≥ 144	20	8,78 (4,95)	29	14,60 (7,87)	0,007²	-0,885
	Todos	36	10,1 (6,44)	57	14,74 (11,03)	0,013²	-0,514
LG (/mm ³)	< 144	23	12.944,74 (3.344,71)	30	10.527,00 (2.929,88)	0,017 ²	0,769
	≥ 144	26	12.684,62 (3547,92)	30	9.209,87 (2595,22)	<0,001²	1,118
	Todos	49	12.806,71 (3.420,63)	60	9.868,43 (2.823,28)	<0,001¹	0,937
Neu (/mm ³)	< 144	23	6.852,83 (3.061,99)	30	5.730,53 (2.430,42)	0,143 ¹	0,406
	≥ 144	24	7100,63 (2706,10)	30	4982,10 (2512,08)	0,004¹	0,811
	Todos	47	6.979,36 (2.856,79)	60	5.356,32 (2.479,44)	0,002¹	0,607
Mon (/mm ³)	< 144	23	312,22 (271,62)	30	213,43 (81,16)	0,404 ²	0,493
	≥ 144	26	368,96 (235,686)	30	284,77 (191,188)	0,099 ²	0,392
	Todos	49	342,80 (252,06)	60	249,10 (149,99)	0,018¹	0,452
Pla /mm ³	< 144	23	486434,78 (123437,44)	30	480366,67 (121079,19)	0,859 ¹	
	≥ 144	26	515500,00 (96687,23)	30	507600,00 (186223,74)	0,846 ¹	
	Todos	49	501857,14 (109851,23)	60	493983,33 (156333,47)	0,767¹	
Ret (%)	< 144	23	5,15 (3,96)	30	5,41 (3,53)	0,501 ²	-0,069
	≥ 144	26	5,76 (3,33)	29	3,97 (2,46)	0,026¹	0,611

	Todos	49	5,74 (3,61)	59	4,70 (3,11)	0,252 ²	0,309
Fe (mcg/dL)	< 144	19	71,38 (36,89)	28	81,09 (31,17)	0,179 ²	
	≥ 144	23	98,04 (47,77)	26	104,90 (50,75)	0,667 ²	
	Todos	42	85,980 (44,74)	54	92,55 (43,06)	0,467 ¹	
Fer µg/L	< 144	19	229,32 (428,58)	28	318,89 (365,64)	0,364 ²	
	≥ 144	23	222,22 (364,62)	27	187,68 (142,97)	0,090 ²	
	Todos	42	225,43 (389,86)	55	254,48 (284,73)	0,672 ¹	
Lipídicas							
APOA1 (mg/dL)	< 144	13	105,85 (13,16)	18	107,72 (12,97)	0,465 ²	-0,143
	≥ 144	21	98,29 (10,13)	21	108,10 (12,25)	0,007¹	-0,873
	Todos	34	101,18 (11,79)	39	107,92 (12,42)	0,021¹	-0,557
APOB (mg/dL)	< 144	13	53,54 (9,58)	18	70,83 (15,67)	0,001¹	-1,331
	≥ 144	21	61,71 (16,39)	21	69,14 (20,97)	0,208 ¹	-0,395
	Todos	34	58,59 (14,58)	39	69,92 (18,49)	0,005¹	-0,950
CT (mg/dL)	< 144	13	113,23 (12,89)	18	74,77 (19,38)	0,007¹	2,337
	≥ 144	21	120,62 (20,27)	21	133,29 (23,01)	0,066 ²	-0,584
	Todos	34	117,79 (17,96)	39	132,41 (22,01)	0,002²	-0,728
LDL (mg/dL)	< 144	13	58,46 (12,08)	18	74,77 (19,38)	0,008¹	-1,010
	≥ 144	21	64,30 (20,71)	21	76,67 (21,25)	0,465 ²	-0,590
	Todos	34	62,06 (17,93)	39	75,79 (20,17)	0,002²	-0,719
HDL (mg/dL)	< 144	13	40,77 (9,17)	18	39,67 (5,01)	0,953 ²	0,149
	≥ 144	21	34,43 (5,36)	21	40,14 (6,73)	0,003²	-0,939
	Todos	34	36,85 (7,64)	39	39,92 (5,93)	0,008²	-0,449
NHDL (mg/dL)	< 144	13	72,62 (12,18)	18	91,72 (21,63)	0,004¹	-1,088
	≥ 144	21	86,19 (19,52)	21	93,10 (25,48)	0,465 ²	-0,304
	Todos	34	81,00 (18,16)	39	92,46 (23,48)	0,033²	-0,546
TG (mg/dL)	< 144	13	70,77 (25,53)	18	84,94 (31,28)	0,146 ²	-0,496
	≥ 144	21	109,43 (53,80)	21	82,24 (29,72)	0,037²	0,626
	Todos	34	94,65 (48,53)	39	83,49 (30,08)	0,507 ²	0,276
Inflamação / hemólise							
BT (mg/dL)	< 144	14	2,96 (1,21)	17	1,76 (0,95)	0,005²	1,103
	≥ 144	21	3,62 (1,72)	20	1,79 (0,83)	<0,001²	1,355
	Todos	35	3,35 (1,55)	37	1,77 (0,87)	<0,001²	1,257
BD (mg/dL)	< 144	14	0,6 (0,18)	17	0,47 (0,12)	0,021¹	0,850
	≥ 144	21	0,66 (0,16)	20	0,46 (0,19)	0,001¹	1,139
	Todos	35	0,64 (0,17)	37	0,46 (0,16)	<0,001¹	1,090
BI (mg/dL)	< 144	14	2,36 (1,19)	17	1,29 (0,89)	0,004²	1,018
	≥ 144	21	2,95 (1,67)	20	1,33 (0,67)	<0,001²	1,273
	Todos	35	2,72 (1,51)	37	1,31 (0,77)	<0,001²	1,176
LDH (U/L)	< 144	13	592,15 (152,56)	17	491,88 (137,83)	0,070 ¹	0,690
	≥ 144	20	645,55 (211,85)	20	482,55 (189,43)	0,014¹	0,811
	Todos	33	624,52 (189,94)	37	486,84 (165,54)	0,002²	1,034
VMM	< 144	11	137,1 (24,56)	22	145,55 (25,48)	0,4859 ²	
	≥ 144	12	120,33 (12,09)	13	117,37 (35,29)	0,1861 ²	

	Todos	23	128,36 (20,51)	35	135,08 (32,11)	0,377 ¹	
--	-------	----	----------------	----	----------------	--------------------	--

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase; 1: Teste T de Student; 2: Tete U de Mann-Whitney

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

APÊNDICE B

Tabela 50 - Avaliação do efeito genético de dominância dos alelos de menor frequência das variantes rs4253747 de *PPARA*, rs709158 e rs10865710 de *PPARG*, rs2016520 de *PPARD*, alfa-tal, rs11865131 de *NPRL3*, rs11865131 de *NPRL3* na ausência de alfa-tal e rs11865131 de *NPRL3* na presença de alfa-tal nos valores de velocidade média máxima

Gene/SNP	Grupo	n	Média (dp)	n	Média (dp)	p	d
<i>PPARA</i> rs4253747	NHU	17	127,96 (22,32)	17	116,28 (16,99)	0,096 ¹	
	HU	19	126,89 (35,46)	32	129,26 (30,50)	0,802 ¹	
	Todos	36	127,40 (29,57)	49	124,76 (27,13)	0,670 ¹	
<i>PPARG</i> rs10865710	NHU	17	123,25 (23,51)	17	120,98 (17,43)	0,838 ²	
	HU	27	128,98 (28,84)	24	127,70 (36,06)	0,889 ¹	
	Todos	44	126,77 (26,77)	41	124,92 (29,67)	0,843 ²	
<i>PPARG</i> rs709158	NHU	25	120,56 (19,96)	9	126,44 (22,24)	0,442 ²	
	HU	32	136,39 (35,70)	19	114,88 (19,04)	0,019¹	0,848
	Todos	57	129,45 (30,64)	28	118,60 (20,46)	0,057 ¹	
<i>PPARD</i> rs2016520	NHU	25	122,12 (22,50)	9	122,11 (14,15)	0,999 ¹	
	HU	32	134,38 (36,31)	19	118,43 (20,64)	0,088 ¹	
	Todos	57	128,95 (31,37)	28	119,61 (18,61)	0,090 ¹	
Alfa-tal	NHU	23	120,63 (17,48)	11	125,22 (26,20)	0,548 ¹	
	HU	42	126,51 (33,53)	9	137,11 (24,02)	0,374 ¹	
	Todos	65	124,43 (28,87)	20	130,57 (25,32)	0,192 ²	
<i>NPRL3</i> rs11865131	NHU	19	124,63 (24,02)	15	118,93 (14,87)	0,427 ¹	
	HU	23	127,69 (36,78)	28	128,94 (28,40)	0,891 ¹	
	Todos	42	126,31 (31,33)	43	125,45 (24,81)	0,889 ¹	
Análise dos genótipos do polimorfismo rs11865131 de <i>NPRL3</i> na ausência de alfa-tal	NHU	10	128,00 (18,98)	8	122,54 (14,94)	0,516 ¹	
	HU	13	136,86 (39,57)	16	129,98 (28,87)	0,559 ²	
	Todos	23	133,00 (31,96)	24	127,50 (24,99)	0,523 ²	
Interação da co-herança de alfa-tal e presença do polimorfismo rs11865131 de <i>NPRL3</i>	NHU	4	142,25 (33,56)	1	--- (---)	0,800 ²	
	HU	4	149,75 (14,73)	2	135,00 (42,43)	0,800 ²	
	Todos	8	146,00 (24,33)	3	131,00 (30,79)	0,415 ¹	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; 1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

APÊNDICE C

Tabela 51 - Avaliação do efeito genético de recessividade dos alelos de menor frequência das variantes rs4253747 de *PPARA*, rs709158 e rs10865710 de *PPARG*, rs2016520 de *PPARD*, alfa-tal, rs11865131 de *NPRL3*, rs11865131 de *NPRL3* na ausência de alfa-tal e rs11865131 de *NPRL3* na presença de alfa-tal nos valores de velocidade média máxima

Gene/SNP	n	Média (dp)	n	Média (dp)	p	d
<i>PPARA</i> rs4253747	70	128,44 (29,02)	15	113,88 (19,57)	0,079 ²	
<i>PPARG</i> rs10865710	77	126,44 (28,45)	8	120,40 (24,83)	0,565 ¹	
<i>PPARG</i> rs709158	80	126,17 (28,75)	5	121,20 (12,93)	0,703 ¹	
<i>PPARD</i> rs2016520	84	125,92 (28,21)	1	--- (---)		
<i>NPRL3</i> rs11865131	79	125,64 (26,84)	6	129,00 (44,33)	0,583 ²	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; 1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

APÊNDICE D

Tabelas de análises de associação do SNP rs4253747 de *PPARA* quando os genótipos foram agrupados no modelo de dominância em relação a terapia com HU. A presença do alelo A (genótipo AT +AA) combinado com a terapia com HU melhora significativamente os parâmetros hematológicos de HbF ($p=0,026$ $d=-0,636$), Neutrófilos ($p=0,010$ e $d=0,688$) e Monócitos ($p=0,042$ e $d=0,574$) e aumenta níveis lipídicos de CT ($p=0,008$ e $d=-0,675$) e HDL ($p=0,013$ e $d=-0,684$) (Tabela 52).

Tabela 52 - Análises de associação entre os genótipos da variante rs4253747 do gene *PPARA*, comparando os grupos sem terapia e em terapia com HU

Variáveis	Genótipo Efeito de dominância	Terapia de HU				p	d
		NHU		HU			
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	TT	21	7,97 (1,20)	22	8,88 (1,09)	0,019¹	-0,794
	AT + AA	29	7,93 (1,44)	38	8,43 (1,43)	0,165 ¹	-0,348
Ht %	TT	21	23,94 (3,77)	22	26,76 (3,49)	0,015¹	-0,776
	AT + AA	29	23,34 (4,01)	38	26,58 (4,13)	0,029¹	-0,796
HCM pg	TT	21	32,08 (14,19)	22	32,49 (3,79)	0,006²	-0,039
	AT + AA	29	29,82 (2,63)	38	33,23 (4,20)	<0,001²	-0,973
VCM fL	TT	21	88,87 (9,68)	22	98,68 (10,70)	0,003¹	-0,962
	AT + AA	29	89,80 (7,00)	38	100,75 (10,77)	<0,001¹	-1,206
HbF %	TT	16	11,58 (7,25)	21	18,10 (15,72)	0,185 ²	-0,533
	AT + AA	20	8,91 (5,61)	36	12,78 (6,53)	0,026²	-0,636
LG /mm ³	TT	21	13.026,10 (3.757,65)	22	9.516,36 (2.801,15)	0,001¹	1,059
	AT + AA	28	12.642,18 (3.205,71)	38	10.072,26 (2.853,18)	0,001¹	0,847
Neu /mm ³	TT	20	6.918,90 (3.243,27)	22	5.458,55 (2.637,72)	0,056 ²	0,494
	AT + AA	27	7.024,15 (2.597,60)	38	5.297,13 (2.417,49)	0,010²	0,688
Mon /mm ³	TT	21	302,81 (251,96)	22	244,96 (134,82)	0,552 ²	0,286
	AT + AA	28	372,79 (252,49)	38	251,50 (159,82)	0,042²	0,574
Pla /mm ³	TT	21	530.66,67 (85.683,33)	22	481.818,18 (155.801,66)	0,209 ¹	
	AT + AA	28	480.250,00 (122.004,14)	38	501.026,32 (158.294,78)	0,565 ¹	
Ret %	TT	21	5,92 (2,97)	21	4,96 (2,85)	0,208 ²	
	AT + AA	28	5,14 (4,05)	38	4,56 (3,27)	0,707 ²	
Fe mcg/dL	TT	21	85,06 (35,23)	20	93,29 (34,39)	0,442 ²	
	AT + AA	21	86,90 (53,49)	34	92,12 (47,92)	0,307 ²	
Fer µg/L	TT	21	157,07 (147,32)	21	358,95 (380,92)	0,035²	-0,699
	AT + AA	21	293,79 (529,21)	34	189,95 (182,99)	0,311 ²	0,262
VMM	TT	14	130,73 (23,28)	13	135,92 (35,60)	0,905 ²	
	AT + AA	9	124,66 (15,84)	22	135,58 (30,74)	0,334 ²	
BT mg/dL	TT	15	3,55 (1,70)	13	1,41 (0,76)	<0,001²	1,625

	AT + AA	20	3,22 (1,45)	24	1,97 (0,88)	0,002²	1,042
BD mg/dL	TT	15	0,68 (0,20)	13	0,42 (0,20)	0,002¹	1,3
	AT + AA	20	0,60 (0,14)	24	0,48 (0,14)	0,006¹	0,857
BI mg/dL	TT	15	2,85 (1,62)	13	0,98 (0,59)	<0,001²	1,534
	AT + AA	20	2,61 (1,49)	24	1,49 (0,80)	0,002²	0,937
LDH U/L	TT	14	596,85 (143,93)	13	453,69 (178,25)	0,030¹	0,884
	AT + AA	19	644,89 (219,42)	24	504,79 (159,24)	0,020¹	0,731
APOA1 mg/dL	TT	14	99,50 (13,97)	13	109,08 (14,39)	0,022²	-0,676
	AT + AA	20	102,35 (10,23)	26	107,35 (11,58)	0,137 ²	-0,458
APOB mg/dL	TT	14	60,14 (9,70)	13	75,69 (21,56)	0,061 ²	
	AT + AA	20	57,50 (17,36)	26	67,04 (16,45)	0,066 ²	
LDL mg/dL	TT	14	62,97 (17,63)	13	82,51 (25,85)	0,043²	-0,883
	AT + AA	20	61,43 (18,56)	26	72,43 (16,19)	0,012²	-0,631
CT mg/dL	TT	14	119,43 (14,76)	13	137,77 (27,79)	0,068 ²	-0,824
	AT + AA	20	116,65 (20,20)	26	129,73 (18,52)	0,008²	-0,675
HDL mg/dL	TT	14	37,78 (8,72)	13	38,46 (5,67)	0,375 ²	-0,092
	AT + AA	20	36,20 (6,95)	26	40,65 (6,03)	0,013²	-0,684
TG mg/dL	TT	14	94,07 (41,11)	13	84,15 (30,46)	0,685 ²	
	AT + AA	20	95,05 (54,16)	26	83,15 (30,43)	0,513 ²	
NHDL mg/dL	TT	14	81,78 (14,76)	13	99,31 (31,22)	0,169 ²	
	AT + AA	20	80,45 (20,56)	26	89,04 (18,26)	0,101 ²	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase; 1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

APÊNDICE E

Tabelas de análises de associação do SNP rs10865710 de *PPARG* quando separados no modelo de dominância em relação a terapia com HU. Comparando os grupos sem ou em terapia com HU encontramos que a combinação da terapia de HU com o genótipo CC aumenta os parâmetros hematológicos Hb com efeito pequeno ($p=0,042$ e $d=-0,495$), Ht ($p=0,009$ e $d=-0,711$) e HbF ($p=0,045$ e $d=-0,592$) com efeito moderado e reduz neutrófilos ($p=0,017$ e $d=0,651$), mas também eleva significativamente os níveis lipídicos com efeito elevado para APOB ($p=0,003$ e $d=-1,138$), LDL ($p=0,001$ e $d=-1,281$), CT ($p=0,006$ e $d=-1,014$) e NHDL ($p=0,025$ e $d=-0,923$) (Tabela 53).

Tabela 53 - Análises de associação entre dos genótipos da variante rs10865710 do gene *PPARG*, comparando os grupos sem ou em terapia com HU

Variáveis	Genótipo Efeito de dominância	Terapia com HU				Efeito	
		NHU		HU		p	d
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	CC	26	7,95 (1,47)	31	8,67 (1,44)	0,042 ¹	-0,495
	GC + GG	24	7,94 (1,20)	29	8,47 (1,52)	0,169 ¹	-0,387
Ht %	CC	26	23,56 (4,07)	31	26,18 (3,25)	0,009 ¹	-0,711
	GC + GG	24	23,62 (3,76)	29	25,83 (4,57)	0,065 ¹	-0,528
HCM pg	CC	26	29,02 (3,30)	31	33,06 (3,85)	<0,001 ²	-1,127
	GC + GG	24	32,67 (12,93)	29	32,84 (4,29)	0,017 ²	-0,018
VCM fL	CC	26	82,67 (7,82)	31	99,81 (9,89)	<0,001 ¹	-1,923
	GC + GG	24	91,34 (8,22)	29	100,19 (11,67)	0,003 ¹	-0,877
HbF %	CC	20	9,14 (4,82)	29	14,98 (13,10)	0,045 ²	-0,592
	GC + GG	16	11,30 (8,03)	28	14,48 (8,60)	0,204 ²	-0,382
LG /mm ³	CC	26	13.701,85 (3.402,92)	31	10.040,84 (2.792,79)	<0,001 ¹	1,176
	GC + GG	23	11.494,83 (3.217,54)	29	9.684,14 (2.893,27)	0,016 ¹	0,592
Neu /mm ³	CC	25	7.377,44 (2.944,36)	31	5.709,84 (2.112,58)	0,017 ¹	0,651
	GC + GG	22	6.527,00 (2.750,70)	29	4.978,41 (2.808,17)	0,055 ¹	0,557
Mon /mm ³	CC	26	358,92 (279,13)	31	267,81 (180,67)	0,324 ²	
	GC + GG	23	324,57 (222,32)	29	229,10 (107,86)	0,111 ²	
Pla /mm ³	CC	26	508.538,46 (123.751,12)	31	500.741,94 (149.301,48)	0,833 ¹	
	GC + GG	23	494.304,35 (93.808,70)	29	486.758,62 (165.864,76)	0,837 ¹	
Ret %	CC	26	4,72 (2,52)	31	4,52 (2,61)	0,771 ¹	
	GC + GG	23	6,33 (4,46)	28	4,90 (3,62)	0,212 ¹	
Fe mcg/dL	CC	21	83,02 (46,34)	29	85,97 (30,47)	0,366 ²	
	GC + GG	21	88,94 (44,03)	25	100,20 (53,83)	0,522 ²	

Fer µg/L	CC	21	158,10 (256,35)	29	259,44 (312,16)	0,236 ²	
	GC + GG	21	292,76 (486,16)	26	248,94 (256,73)	0,280 ²	
VMM	CC	10	134,40 (25,18)	19	136,72 (30,58)	1,000 ²	
	GC + GG	13	123,72 (15,56)	16	133,13 (34,75)	0,503 ²	
BT mg/dL	CC	17	3,30 (1,43)	20	1,84 (0,92)	<0,001 ²	1,214
	GC + GG	18	3,40 (1,70)	17	1,70 (0,83)	<0,001 ²	1,271
BD mg/dL	CC	17	0,63 (0,16)	20	0,47 (0,20)	0,011 ¹	0,883
	GC + GG	18	0,64 (0,18)	17	0,45 (0,11)	0,001 ¹	1,274
BI mg/dL	CC	17	2,67 (1,44)	20	1,36 (0,77)	0,001 ²	1,135
	GC + GG	18	2,76 (1,62)	17	1,26 (0,79)	<0,001 ²	1,177
LDH U/L	CC	15	627,40 (208,50)	20	508,20 (151,47)	0,058 ¹	0,654
	GC + GG	18	622,11 (179,16)	17	461,71 (182,14)	0,013 ¹	0,888
APOA1 mg/dL	CC	15	101,47 (10,08)	21	108,76 (13,77)	0,090 ¹	
	GC + GG	19	100,95 (13,26)	18	106,94 (10,96)	0,144 ¹	
APOB mg/dL	CC	15	57,80 (13,99)	21	74,57 (15,44)	0,003 ²	-1,138
	GC + GG	19	59,21 (15,37)	18	64,50 (20,64)	0,663 ²	-0,291
LDL mg/dL	CC	15	59,00 (13,12)	21	78,52 (17,10)	0,001 ²	-1,281
	GC + GG	19	64,48 (21,01)	18	72,60 (23,34)	0,199 ²	-0,366
CT mg/dL	CC	15	116,87 (14,56)	21	134,05 (19,03)	0,006 ²	-1,014
	GC + GG	19	118,53 (20,63)	18	130,50 (25,48)	0,075 ²	-0,516
HDL mg/dL	CC	15	38,40 (6,47)	21	39,19 (6,51)	0,526 ²	-0,122
	GC + GG	19	35,63 (8,42)	18	40,78 (5,22)	0,002 ²	-0,735
TG mg/dL	CC	15	98,00 (58,84)	21	81,76 (23,36)	0,657 ²	
	GC + GG	19	92,00 (40,11)	18	85,50 (37,04)	0,641 ²	
NHDL mg/dL	CC	15	78,60 (15,19)	21	94,86 (19,76)	0,025 ²	-0,923
	GC + GG	19	82,89 (20,41)	18	89,67 (27,53)	0,518 ²	-0,280

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

Teste T de Students; 2: Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

APÊNDICE F

Tabelas de análises de associação do SNP rs709158 de *PPARG* quando os genótipos foram separados no modelo de dominância em relação a terapia com HU. Comparando os grupos sem ou em terapia com HU encontramos que a terapia de HU nos indivíduos com alelo G no genótipo (AG+GG) aumentou significativamente a Hb (p=0,030 e d=-0,848) e a HbF (p=0,004 e d=-1,126) com efeito elevado e que a ausência desse alelo (genótipo AA) combinado com terapia de HU altera significativamente os parâmetros lipídicos de: APOB com efeito elevado (p=0,005 e d=-0,814), LDL (p=0,007 e d=-0,753), CT (p=0,005 e d=-0,785) e NHDL (p=0,017 e d=-0,630) com efeito moderado e HDL sem efeito (p=0,047 e d=-0,315) (Tabela 54).

Tabela 54 - Análises de associação entre os genótipos da variante rs709158 do gene *PPARG*, comparando os grupos sem ou em terapia com HU

Variáveis	Genótipo Efeito de dominância	Terapia com HU				p	Efeito d
		NHU		HU			
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	AA	34	8,02 (1,34)	40	8,45 (1,42)	0,118 ²	-0,311
	AG + GG	16	7,78 (1,35)	20	8,82 (1,09)	0,030²	-0,848
Ht %	AA	34	23,76 (3,80)	40	25,77 (4,27)	0,037¹	-0,497
	AG + GG	16	23,24 (4,15)	20	26,50 (3,15)	0,011¹	-0,885
HCM pg	AA	34	31,14 (11,07)	40	32,58 (4,03)	< 0,001²	-0,173
	AG + GG	16	29,98 (3,84)	20	33,70 (4,04)	0,010²	-0,944
VCM fL	AA	34	88,54 (7,27)	40	99,48 (10,89)	< 0,001¹	-1,182
	AG + GG	16	91,25 (9,76)	20	101,03 (10,50)	0,007¹	-0,965
HbF %	AA	22	10,59 (6,81)	39	13,66 (12,20)	0,307 ²	-0,311
	AG + GG	14	9,32 (5,97)	18	17,07 (7,69)	0,004²	-1,126
LG /mm ³	AA	33	12.172,15 (3.396,26)	40	9.952,25 (2.883,14)	0,004¹	0,705
	AG + GG	16	14.115,50 (3.181,55)	20	9.700,80 (2.764,95)	< 0,001¹	1,481
Neu /mm ³	AA	32	6.529,59 (2.715,68)	40	5.465,05 (2.447,25)	0,053 ²	0,412
	AG + GG	15	7.938,87 (3.006,09)	20	5.138,85 (2.592,68)	0,003²	0,998
Mon /mm ³	AA	33	365,42 (262,73)	40	241,23 (155,71)	0,010²	0,575
	AG + GG	16	296,13 (229,36)	20	264,86 (104,36)	0,694 ²	0,175
Pla /mm ³	AA	33	483.393,94 (88.306,62)	40	530.125,00 (146.562,18)	0,115 ²	-0,386
	AG + GG	16	539.937,50 (140.295,15)	20	421.700,00 (153.465,96)	0,021²	0,804
Ret %	AA	33	5,64 (4,11)	39	4,61 (2,73)	0,400 ²	
	AG + GG	16	5,13 (2,38)	20	4,898 (3,81)	0,422 ²	
Fe mcg/dL	AA	30	85,21 (45,08)	35	99,49 (47,74)	0,148 ²	
	AG + GG	12	87,92 (45,81)	19	79,78 (29,80)	0,675 ²	
Fer µg/L	AA	30	203,17 (353,60)	36	296,14 (299,27)	0,039²	-0,284

	AG + GG	12	281,08 (481,82)	19	175,53 (242,93)	0,459 ²	0,277
VMM	AA	17	126,14 (19,26)	22	144,03 (34,89)	0,065 ¹	
	AG + GG	6	134,67 (24,49)	13	119,94 (19,90)	0,180 ¹	
BT mg/dL	AA	25	3,31 (1,46)	24	1,73 (0,85)	<0,001 ²	1,323
	AG + GG	10	3,46 (1,83)	13	1,86 (0,94)	0,015²	1,100
BD mg/dL	AA	25	0,62 (0,15)	24	0,45 (0,15)	<0,001 ¹	1,133
	AG + GG	10	0,68 (0,21)	13	0,49 (0,19)	0,027¹	0,949
BI mg/dL	AA	25	2,69 (1,43)	24	1,28 (0,76)	<0,001 ²	1,231
	AG + GG	10	2,78 (1,77)	13	1,37 (0,82)	0,018²	1,022
LDH U/L	AA	25	638,76 (206,32)	24	522,46 (178,07)	0,040¹	0,603
	AG + GG	8	580,00 (126,45)	13	421,08 (119,24)	0,009¹	1,293
APOA1 mg/dL	AA	26	102,12 (13,06)	26	108,81 (11,99)	0,060 ¹	
	AG + GG	8	98,13 (5,72)	13	106,15 (13,57)	0,077 ¹	
APOB mg/dL	AA	26	58,81 (14,53)	26	72,00 (17,73)	0,005¹	-0,814
	AG + GG	8	57,88 (15,71)	13	65,77 (20,00)	0,355 ¹	-0,439
LDL mg/dL	AA	26	63,23 (19,00)	26	77,31 (18,41)	0,007²	-0,753
	AG + GG	8	58,28 (14,32)	13	72,75 (23,80)	0,104 ²	-0,737
CT mg/dL	AA	26	118,58 (18,86)	26	133,69 (19,64)	0,005²	-0,785
	AG + GG	8	115,25 (15,54)	13	129,85 (26,8)	0,161 ²	-0,666
HDL mg/dL	AA	26	37,50 (8,52)	26	39,77 (5,60)	0,047²	-0,315
	AG + GG	8	34,75 (3,06)	13	40,23 (6,76)	0,064 ²	-1,044
TG mg/dL	AA	26	89,58 (36,77)	26	83,15 (29,10)	0,749 ²	
	AG + GG	8	111,13 (76,62)	13	84,15 (33,16)	0,645 ²	
NHDL mg/dL	AA	26	81,15 (19,28)	26	93,88 (21,07)	0,017²	-0,630
	AG + GG	8	80,50 (15,06)	13	89,62 (28,42)	0,595 ²	-0,401

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

APÊNDICE G

Tabela de análises de associação do SNP rs2016520 de *PPARD* quando os genótipos foram separados no modelo de dominância em relação a terapia com HU. A terapia com HU apresentou impacto mais significativo de alguns parâmetros laboratoriais nos indivíduos que apresentam o alelo C (genótipo TC+CC): aumento de Hb com efeito elevado ($p=0,023$ e $d=-1,112$) e HbF com efeito moderado ($p=0,050$ e $d=-0,651$). Por outro lado, os indivíduos de genótipo TT que fazem uso da HU tiveram significância na redução de neutrófilos ($p=0,015$ e $d=0,579$, com efeito moderado) e LDH ($p=0,004$ e $d=0,893$, com efeito elevado); no aumento de APOA ($p=0,036$ e $d=-0,623$), APOB ($p=0,026$ e $d=-0,667$) e LDL ($p=0,008$ e $d=-0,741$) com efeito moderado e HDL ($p=0,011$ e $d=-0,405$) com efeito pequeno (Tabela 55).

Tabela 55 - Análises de associação entre os genótipos da variante rs2016520 do gene *PPARD*, comparando os grupos sem terapia ou em terapia com HU

Variáveis	Genótipo Efeito de dominancia	Terapia de HU				p	Efeito d
		NHU		HU			
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	TT	37	8,02 (1,43)	39	8,51 (1,41)	0,134 ¹	-0,345
	TC + CC	13	7,45 (1,03)	21	8,67 (1,16)	0,023 ¹	-1,112
Ht %	TT	37	23,74 (4,12)	39	25,92 (4,18)	0,026 ¹	-0,525
	TC + CC	13	23,16 (3,21)	21	26,19 (3,46)	0,016 ¹	-0,908
HCM pg	TT	37	30,97 (10,78)	39	32,73 (4,18)	<0,001 ²	-0,215
	TC + CC	13	30,20 (2,74)	21	33,38 (3,81)	0,018 ²	-0,958
VCM fL	TT	37	89,22 (8,83)	39	99,67 (11,18)	<0,001 ²	-1,037
	TC + CC	13	89,95 (6,09)	21	100,60 (9,97)	0,001 ²	-1,289
HbF %	TT	27	10,70 (6,93)	36	14,33 (8,24)	0,075 ²	-0,477
	TC + CC	9	8,28 (4,48)	21	15,42 (14,86)	0,050 ²	-0,651
LG /mm ³	TT	37	12.835,92 (3.627,63)	39	9.786,05 (2.700,32)	<0,001 ¹	0,954
	TC + CC	12	12.716,67 (2.824,51)	21	10.021,43 (3.101,96)	0,019 ¹	0,909
Neu /mm ³	TT	35	6.917,54 (2.879,88)	39	5.351,62 (2.516,58)	0,015 ¹	0,579
	TC + CC	12	7.159,678 (2.906,22)	21	5.365,05 (2.470,28)	0,069 ¹	0,665
Mon /mm ³	TT	37	301,81 (196,35)	39	217,46 (101,76)	0,065 ²	
	TC + CC	12	469,17 (357,77)	21	307,87 (202,77)	0,213 ²	
Pla /mm ³	TT	37	492.691,62 (11.970,14)	39	508.282,05 (144.165,28)	0,588 ¹	
	TC + CC	12	530.333,33 (132.122,07)	21	467.428,57 (177.399,15)	0,294 ¹	
Ret %	TT	37	5,32 (2,94)	38	4,78 (3,44)	0,268 ²	
	TC + CC	12	5,95 (5,33)	21	4,56 (2,46)	0,782 ²	
Fe mcg/dL	TT	32	84,19 (41,23)	34	88,15 (41,47)	0,640 ²	
	TC + CC	10	91,70 (56,73)	20	100,05 (45,73)	0,183 ²	

Fer µg/L	TT	32	208,20 (314,28)	35	320,25 (334,59)	0,060 ²	
	TC + CC	10	280,55 (589,71)	20	139,38 (90,35)	0,502 ²	
VMM	TT	19	128,81 (21,73)	22	145,16 (34,36)	0,082 ¹	
	TC + CC	4	126,25 (15,65)	13	118,02 (18,82)	0,442 ¹	
BT mg/dL	TT	25	3,49 (1,74)	24	1,68 (0,79)	<0,001 ²	1,340
	TC + CC	10	3,02 (0,91)	13	1,95 (1,01)	0,015 ²	1,113
BD mg/dL	TT	25	0,63 (0,18)	24	0,46 (0,17)	0,002 ¹	0,971
	TC + CC	10	0,67 (0,14)	13	0,47 (0,14)	0,003 ¹	1,429
BI mg/dL	TT	25	2,86 (1,69)	24	1,22 (0,68)	<0,001 ²	1,273
	TC + CC	10	2,35 (0,89)	13	1,48 (0,92)	0,026 ²	0,961
LDH U/L	TT	23	623,13 (197,63)	24	461,71 (162,06)	0,004 ¹	0,893
	TC + CC	10	627,70 (180,28)	13	533,23 (168,17)	0,209 ¹	0,542
APOA1 mg/dL	TT	23	100,52 (13,18)	25	108,64 (12,90)	0,036 ¹	-0,623
	TC + CC	11	102,55 (8,59)	14	106,64 (11,86)	0,327 ¹	-0,395
APOB mg/dL	TT	23	60,17 (15,24)	25	71,68 (19,08)	0,026 ¹	-0,667
	TC + CC	11	55,27 (13,12)	14	66,79 (17,63)	0,084 ¹	-0,741
LDL mg/dL	TT	23	61,91 (19,02)	25	76,78 (21,06)	0,008 ²	-0,741
	TC + CC	11	62,38 (16,26)	14	74,01 (19,09)	0,120 ²	-0,656
CT mg/dL	TT	23	119,13 (18,92)	25	133,28 (23,76)	0,020 ²	-0,659
	TC + CC	11	115,00 (16,28)	14	130,86 (19,22)	0,033 ²	-0,890
HDL mg/dL	TT	23	37,04 (7,82)	25	39,72 (5,15)	0,011 ²	-0,405
	TC + CC	11	36,45 (7,59)	14	40,29 (7,31)	0,317 ²	-0,515
TG mg/dL	TT	23	100,87 (53,03)	25	83,92 (33,83)	0,269 ²	
	TC + CC	11	81,64 (36,19)	14	82,71 (23,02)	0,609 ²	
NHDL mg/dL	TT	23	82,09 (19,73)	25	93,52 (25,09)	0,085 ²	
	TC + CC	11	78,73 (14,96)	14	90,57 (21,06)	0,202 ²	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

APÊNDICE H

Tabela de análises de associação para co-herança de alfa-tal em relação a terapia com HU. O uso de HU traz maior benefício aos indivíduos sem co-herança de alfa-tal observado nas diferenças significativas dos parâmetros de Hb, Ht, HbF, contagem de leucócitos globais, neutrófilos e monócitos e parâmetros lipídicos de APOA1, APOB, LDL e HDL (Tabela 56).

Tabela 56 - Análises de associação entre co-herança de alfa-tal, comparando os grupos sem ou em terapia com HU

Parâmetros laboratoriais	Co-herança de alfa-tal	Terapia de HU				p	d
		NHU		HU			
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	Sem	38	7,97 (1,45)	51	8,58 (1,40)	0,049 ¹	-0,428
	Com	12	7,87 (0,92)	9	8,53 (0,76)	0,095 ¹	-0,782
Ht %	Sem	38	23,48 (4,20)	51	25,95 (4,05)	0,006 ¹	-0,599
	Com	12	23,96 (2,75)	9	26,37 (3,23)	0,081 ¹	-0,803
HCM pg	Sem	38	31,83 (10,50)	51	33,57 (3,93)	<0,001 ²	-0,219
	Com	12	27,42 (1,55)	9	29,50 (2,84)	0,069 ²	-0,909
VCM fL	Sem	38	91,32 (8,35)	51	101,64 (10,45)	<0,001 ²	-1,091
	Com	12	83,35 (2,93)	9	90,67 (6,80)	0,018 ²	-1,398
HbF %	Sem	30	10,12 (6,75)	48	15,23 (11,76)	0,018 ²	-0,533
	Com	6	10,00 (5,04)	9	12,10 (5,41)	0,328 ²	-0,402
LG /mm ³	Sem	38	13.049,50 (3.529,07)	51	9.858,94 (2.872,76)	<0,001 ¹	0,992
	Com	11	11.968,00 (3.014,10)	9	9.922,22 (2.683,64)	0,130 ¹	0,717
Neu /mm ³	Sem	37	7.190,30 (2.542,81)	51	5.356,43 (2.500,97)	0,001 ¹	0,727
	Com	10	6.198,90 (3.871,67)	9	5.355,67 (2.499,16)	0,585 ¹	0,259
Mon /mm ³	Sem	38	360,97 (257,66)	51	251,28 (155,92)	0,022 ²	0,515
	Com	11	280,00 (231,80)	9	236,78 (117,38)	0,941 ²	0,235
Pla /mm ³	Sem	38	494.421,05 (102.223,82)	51	488.941,18 (161.984,62)	0,855 ¹	
	Com	11	527.545,45 (135.362,75)	9	522.555,56 (123.173,77)	0,933 ¹	
Ret %	Sem	38	5,95 (3,79)	50	4,81 (3,19)	0,127 ²	
	Com	11	3,85 (2,39)	9	4,10 (2,67)	0,882 ²	
Fe mcg/dL	Sem	34	84,09 (42,49)	46	93,02 (38,77)	0,204 ²	
	Com	8	94,00 (55,88)	8	89,88 (66,05)	0,798 ²	
Fer µg/L	Sem	34	241,18 (430,73)	47	249,94 (290,21)	0,087 ²	
	Com	8	158,49 (96,26)	8	281,13 (266,43)	0,574 ²	
VMM	Sem	18	125,57 (17,04)	29	133,06 (33,61)	0,592 ²	
	Com	5	138,40 (30,31)	6	144,83 (23,41)	0,662 ²	
BT mg/dL	Sem	25	3,55 (1,65)	31	1,85 (0,92)	<0,001 ²	1,273

	Com	10	2,87 (1,19)	6	1,41 (0,39)	0,011²	1,649
BD mg/dL	Sem	25	0,65 (0,16)	31	0,46 (0,17)	<0,001¹	1,151
	Com	10	0,60 (0,20)	6	0,45 (0,14)	0,127 ¹	0,869
BI mg/dL	Sem	25	2,89 (1,60)	31	1,38 (0,81)	<0,001²	1,191
	Com	10	2,27 (1,20)	6	0,96 (0,36)	0,011²	1,479
LDH U/L	Sem	25	644,33 (193,26)	31	507,94 (171,38)	0,014²	0,747
	Com	9	571,67 (180,60)	6	377,83 (63,76)	0,012²	1,431
APOA1 mg/dL	Sem	24	99,83 (10,15)	32	107,25 (12,69)	0,022¹	-0,646
	Com	10	104,40 (15,17)	7	111,00 (11,45)	0,347 ¹	-0,491
APOB mg/dL	Sem	24	59,33 (14,70)	32	70,19 (17,54)	0,017¹	-0,671
	Com	10	56,80 (14,88)	7	68,71 (23,98)	0,224 ¹	-0,597
LDL mg/dL	Sem	24	61,38 (18,80)	32	76,59 (20,08)	0,005²	-0,782
	Com	10	63,72 (16,47)	7	72,11 (21,77)	0,417 ²	-0,435
CT mg/dL	Sem	24	117,75 (18,34)	32	133,28 (22,09)	0,004²	-0,765
	Com	10	117,90 (17,99)	7	128,43 (22,85)	0,270 ²	-0,512
HDL mg/dL	Sem	24	36,13 (6,56)	32	39,75 (6,08)	0,018²	-0,572
	Com	10	38,60 (9,97)	7	40,71 (5,53)	0,230 ²	-0,262
TG mg/dL	Sem	24	101,63 (54,68)	32	84,69 (29,89)	0,380 ²	
	Com	10	77,90 (23,51)	7	78,00 (32,69)	0,962 ²	
NHDL mg/dL	Sem	24	81,71 (18,50)	32	93,50 (23,20)	0,054 ²	
	Com	10	79,30 (18,16)	7	87,71 (26,04)	0,669 ²	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

APÊNDICE I

Tabela de análises de associação da terapia com HU com os genótipos GG e AG+AA no modelo de dominância do SNP rs11865141 de *NPRL3*. Em geral, e como esperado, o uso de HU foi capaz de melhorar todos os parâmetros laboratoriais de gravidade independente do genótipo. Porém, encontramos diferenças significativas com uso da HU e ausência do alelo A (genótipo GG) no aumento de Hb ($p=0,001$ e $d=-0,963$), Ht ($p<0,001$ e $d=-1,095$), HbF ($p=0,019$ e $d=-0,717$), lipídios APOA1 ($p=0,001$ e $d=-1,312$), APOB ($p=0,017$ e $d=-0,852$), LDL ($p=0,007$ e $d=-0,916$), CT ($p=0,009$ e $d=-0,951$) e HDL ($p=0,019$ e $d=-0,760$); redução de monócitos ($p=0,032$ e $d=0,691$), reticulócitos ($p=0,029$ e $d=0,672$) e LDH ($p=0,001$ e $d=1,202$). O uso de HU para os indivíduos de genótipo AG+AA acarreta redução significativa com efeito moderado de neutrófilos ($p=0,007$ e $d=0,764$) (Tabela 57).

Tabela 57 - Análises de associação entre genótipos da variante rs11865131 do gene *NPRL3*, comparando os grupos sem ou em terapia com HU

Variáveis	Genótipo Efeito de dominância	Terapia com HU				Efeito	
		NHU		HU		p	d
		N	Média (dp)	N	Média (dp)		
Hb g/dL	GG	26	7,57 (1,08)	26	8,71 (1,28)	0,001¹	-0,963
	AG + AA	24	8,36 (1,48)	34	8,47 (1,36)	0,772 ¹	-0,077
Ht %	GG	26	22,75 (3,32)	26	26,67 (3,82)	<0,001¹	-1,095
	AG + AA	24	24,50 (4,30)	34	25,51 (3,97)	0,362 ¹	-0,244
HCM pg	GG	26	31,37 (12,74)	26	32,55 (4,30)	0,005²	-0,124
	AG + AA	24	30,12 (2,96)	34	33,27 (3,86)	0,001²	-0,916
VCM fL	GG	26	88,94 (7,56)	26	99,88 (12,57)	<0,001¹	-1,055
	AG + AA	24	89,92 (8,89)	34	100,07 (9,21)	<0,001¹	-1,121
HbF %	GG	22	9,77 (4,89)	25	17,48 (14,39)	0,019²	-0,717
	AG + AA	14	10,61 (8,51)	32	12,59 (6,96)	0,247 ²	-0,255
LG /mm ³	GG	26	12.651,12 (4.178,90)	26	9.462,54 (3.025,44)	0,003¹	0,874
	AG + AA	23	12.982,61 (2.371,35)	34	10.178,82 (2.662,26)	<0,001¹	1,112
Neu /mm ³	GG	24	6.566,13 (3.381,12)	26	5.002,58 (2.476,62)	0,67 ¹	0,528
	AG + AA	23	7.410,57 (2.175,34)	34	5.626,82 (2.484,05)	0,007¹	0,764
Mon /mm ³	GG	26	402,96 (306,25)	26	234,08 (160,16)	0,032²	0,691
	AG + AA	23	274,78 (151,43)	34	260,59 (143,10)	0,597 ²	0,096
Pla /mm ³	GG	26	500.076,92 (97.644,22)	26	505.730,77 (165.636,60)	1,000 ²	
	AG + AA	23	503.869,57 (124.443,23)	34	485.000,00 (150.730,54)	0,795 ²	
Ret %	GG	26	5,81 (2,98)	25	4,00 (2,37)	0,029²	0,672
	AG + AA	23	5,09 (4,26)	34	5,21 (3,50)	0,684 ²	-0,031

Fe mcg/dL	GG	23	98,22 (48,12)	22	92,72 (35,04)	0,803 ²	0,131
	AG + AA	19	71,17 (36,15)	32	92,44 (48,35)	0,048²	-0,498
Fer µg/L	GG	23	178,88 (285,27)	23	333,51 (367,55)	0,093 ²	
	AG + AA	19	281,78 (490,53)	32	197,68 (193,34)	0,495 ²	
VMM	GG	14	132,07 (23,54)	17	139,89 (35,31)	0,493 ²	
	AG + AA	9	122,59 (13,97)	18	130,54 (29,05)	0,668 ²	
BT mg/dL	GG	18	3,35 (1,37)	17	1,51 (0,92)	<0,001²	1,577
	AG + AA	17	3,36 (1,77)	20	2,00 (0,78)	0,008²	0,994
BD mg/dL	GG	18	0,62 (0,19)	17	0,43 (0,16)	0,003¹	1,082
	AG + AA	17	0,65 (0,16)	20	0,48 (0,17)	0,003¹	1,030
BI mg/dL	GG	18	2,73 (1,32)	17	1,08 (0,82)	<0,001²	1,502
	AG + AA	17	2,70 (1,74)	20	1,52 (0,68)	0,020²	0,893
LDH U/L	GG	17	646,71 (181,36)	17	444,00 (154,81)	0,001¹	1,202
	AG + AA	16	600,94 (201,82)	20	523,25 (169,42)	0,218 ¹	0,416
APOA1 mg/dL	GG	17	96,82 (7,67)	18	110,00 (11,96)	0,001¹	-1,312
	AG + AA	17	105,53 (13,70)	21	106,14 (12,82)	0,888 ¹	-0,046
APOB mg/dL	GG	17	55,41 (13,31)	18	69,78 (19,80)	0,017¹	-0,852
	AG + AA	17	61,76 (15,48)	21	70,05 (17,79)	0,139 ¹	-0,497
LDL mg/dL	GG	17	60,16 (17,40)	18	77,16 (19,64)	0,007²	-0,916
	AG + AA	17	63,96 (18,78)	21	74,62 (21,01)	0,068 ²	-0,535
CT mg/dL	GG	17	115,65 (16,31)	18	133,78 (21,47)	0,009²	-0,951
	AG + AA	17	119,94 (19,74)	21	131,24 (22,92)	0,107 ²	-0,528
HDL mg/dL	GG	17	35,47 (7,44)	18	40,44 (5,49)	0,019²	-0,760
	AG + AA	17	38,24 (7,81)	21	39,48 (6,38)	0,268 ²	-0,174
TG mg/dL	GG	17	100,65 (61,52)	18	81,00 (31,64)	0,546 ²	
	AG + AA	17	88,65 (31,58)	21	85,62 (29,28)	0,642 ²	
NHDL mg/dL	GG	17	80,29 (16,74)	18	93,28 (24,21)	0,134 ²	
	AG + AA	17	81,71 (19,97)	21	91,76 (23,42)	0,161 ²	

Nota: n: número de indivíduos; dp: desvio padrão; HU: em terapia com hidroxiureia; NHU: sem terapia com hidroxiureia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucometria global; Ret: reticulócitos; Neu: neutrófilos; Mon: monócitos; Pla: plaquetas; Fe: ferro; Ferr: ferritina; APOA1: Apolipoproteína A1; APOB: Apolipoproteína B; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; NHDL: não lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta; LDH: lactato desidrogenase.

1: Teste T de Students; 2: U de Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).