

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

RAÍSSA NOGUEIRA BERNARDO

**INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE
SELP E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DA SP-SELECTINA COM COMPLICAÇÕES
CLÍNICAS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

Recife
2024

RAÍSSA NOGUEIRA BERNARDO

**INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE
SELP E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DA SP-SELECTINA COM COMPLICAÇÕES
CLÍNICAS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Genética da
Universidade Federal de Pernambuco como
parte dos requisitos exigidos para obtenção do
título de Mestre em Genética e Biologia
Molecular.

Área de concentração: Genética.

Orientador: Profº Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra

Coorientador: Profº Dr. Antonio Roberto Lucena de Araújo

Coorientador: Dr. Aderson da Silva Araújo

Recife
2024

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Bernardo, Raíssa Nogueira.

Investigação da associação de polimorfismos no gene selp e dos níveis plasmáticos da SP-selectina com complicações clínicas de pacientes com anemia falciforme. / . – 2024.

68 f. : il., fig.; tab.

Orientador: Marcos André Cavalcanti Bezerra.

Coorientador: Antônio Roberto Lucena de Araújo.

Coorientador: Aderson da Silva Araújo.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Genética e biologia molecular 2024.

Inclui referências.

1. Anemia falciforme. 2. SELP. 3. P-selectina. 4. rs1800805. 5. rs6131. 6. rs6133. I. Bezerra, Marcos André Cavalcanti. (Orient.). II. Araújo, Antônio Roberto Lucena de. (Coorient.). III. Araújo, Aderson da Silva. (Coorient.). IV. Título.

580

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2024-139

RAÍSSA NOGUEIRA BERNARDO

**INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE
SELP E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DA SP-SELECTINA COM COMPLICAÇÕES
CLÍNICAS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

Aprovado em 16 /02/2024

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra
Universidade Federal de Pernambuco

Dr^a Neide Santos
Universidade Federal de Pernambuco

Dr^a. Betânia Lucena Domingues Hatzlhofer
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Pedro Luiz de França Neto
Universidade Federal de Pernambuco

Recife

2024

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus mais sinceros agradecimentos a todos que contribuíram para a realização desta dissertação de mestrado.

Primeiramente, agradeço ao meu orientador professor Dr. Marcos André por seu constante apoio, orientação e incentivo ao longo deste processo. Sua expertise e dedicação foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço também ao meu coorientador professor doutor Antônio Roberto por sua valiosa contribuição.

À minha mãe Viviane, meu pai José Carlos e meu irmão Ruan Carlo, sou imensamente grata pelo apoio incondicional, amor e encorajamento que me proporcionaram durante toda a jornada.

Expresso minha gratidão à doutoranda Gabriela Arcanjo, à doutoranda Maria Luiza Figueira e ao mestre Alexsandro Pedro pelas valiosas trocas e discussões proporcionadas. Suas contribuições foram essenciais para aprimorar minha compreensão do tema.

Não poderia deixar de mencionar o doutor Aderson da Silva Araújo, meu coorientador e fonte de inspiração. Sua orientação e conselhos foram de grande importância para o sucesso deste trabalho e sempre esteve disponível para esclarecer dúvidas e oferecer sugestões construtivas.

Por último, agradeço imensamente ao meu marido Lucas e minha filha Marina. Seu apoio, compreensão e paciência durante todo esse período foram essenciais. Vocês foram minha fonte de força e motivação.

A todos vocês, meu profundo agradecimento por fazerem parte dessa conquista e por ajudarem a tornar minha jornada acadêmica significativa e enriquecedora.

Muito obrigado a todos!

RESUMO

A anemia falciforme (AF) é caracterizada por um quadro hemolítico e inflamatório crônico, além de oclusão de vasos da microcirculação. Uma importante molécula no processo de adesão celular e de vaso-oclusão é a P-selectina. A P-selectina, exposta na superfície endotelial, leva ao aumento da adesão de leucócitos e de hemácias falcizadas, contribuindo para a vaso-oclusão. Polimorfismos no gene que codifica a P-selectina (*SELP*) podem estar associados a um quadro clínico adverso nos pacientes com AF. Assim, o objetivo deste trabalho é investigar a associação de polimorfismos (rs1800805, rs6131 e rs6133) no gene *SELP* e os níveis séricos da P-selectina solúvel (sP-selectina) e associar com o quadro clínico de pacientes com AF. Foram selecionados 327 pacientes com AF, com mediana de idade de 34 anos (18 - 63 anos), sendo 56,3% do sexo feminino. Os polimorfismos rs1800805 e rs6131 não se mostraram associados com a ocorrência das complicações clínicas ($P > 0,05$), enquanto o genótipo GT do rs6133 foi associado com maior frequência ($P = 0,025$) e incidência cumulativa de síndrome torácica aguda ($P = 0,037$). Além disso, foram observados maiores níveis séricos de sP-selectina em pacientes com AF durante a crise vaso-oclusiva quando comparado a controles em estado basal ($P < 0,0001$). Esses resultados apontam para a importância da P-selectina no processo vaso-oclusivo e o potencial do polimorfismo *SELP* rs6133 como um possível marcador molecular dos desfechos clínicos da doença.

Palavras-chave: Anemia Falciforme. *SELP*. P-selectina. rs1800805. rs6131. rs6133.

ABSTRACT

Sickle cell anemia (SCA) is characterized by a chronic hemolytic and inflammatory condition, along with the occlusion of vessels in the microcirculation. An important molecule in the cellular adhesion and vaso-occlusive process is P-selectin. P-selectin, exposed on the endothelial surface, leads to increased adhesion of leukocytes, and sickled red blood cells, contributing to vaso-occlusion. Polymorphisms in the gene encoding P-selectin (*SELP*) may be associated with an adverse clinical profile in patients with SCA. Thus, the aim of this study is to investigate the association of polymorphisms (rs1800805, rs6131, and rs6133) in the *SELP* gene and serum levels of soluble P-selectin (sP-selectin) and to associate them with the clinical profile of patients with SCA. A total of 327 SCA patients were selected, with 56.3% being female, and a median age of 34 years (18 - 63 years). Polymorphisms rs1800805 and rs6131 did not show associations with the occurrence of clinical complications ($P > 0.05$). On the other hand, the GT genotype of rs6133 was associated with a higher frequency ($P = 0.025$) and cumulative incidence of acute chest syndrome ($P = 0.037$). Furthermore, higher serum levels of sP-selectin were observed in SCA patients during vaso-occlusive crisis compared to controls in a basal state ($P < 0.0001$). These results highlight the importance of P-selectin in the vaso-occlusive process and the potential of the *SELP* rs6133 polymorphism as a possible molecular marker for clinical outcomes in the disease.

Keywords: Sickle Cell Anemia; *SELP*; P-selectin; rs1800805; rs6131; rs6133

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Representação do processo de indução à falcização das hemácias pela polimerização da desoxi-hemoglobina diante da baixa concentração de oxigênio.	14
Figura 2: Fisiopatologia da doença falciforme.	16
Figura 3: Modelo de sobreposição de sub-fenótipos da AF..	17
Figura 4: Complicações clínicas comuns da anemia falciforme.	19
Figura 5: Interações celulares da P-selectina.	20
Figura 6: Mecanismo de ação do crizanlizumabe.	22
Figura 7: Representação esquemática das estruturas das selectinas P-, E- e L-.	24
Figura 8: Polimorfismos no gene da P-selectina humana..	25
Figura 9: Probabilidade cumulativa para desenvolvimento de STA em pacientes com AF de acordo com os genótipos para o polimorfismo SELP rs6133.	39
Figura 10: Avaliação dos níveis de sP-selectina sérica de acordo com a ocorrência de crises vaso-oclusivas (CVO) e osteonecrose em pacientes com AF.	40
Figura 11: Avaliação dos níveis de sP-selectina sérica de acordo com os polimorfismos rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene SELP.	41
Figura 12: Avaliação dos níveis de sP-selectina sérica de acordo com os polimorfismos rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene SELP em pacientes controle com AF.	42
Figura 13: Avaliação dos níveis de sP-selectina sérica de acordo com os polimorfismos rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene SELP em pacientes com AF durante episódio de crise vaso-oclusiva (CVO).	42
Figura 14: Avaliação dos níveis de sP-selectina sérica de acordo com os polimorfismos rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene SELP em pacientes com AF e osteonecrose..	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros laboratoriais da população geral.	32
Tabela 2: Caracterização clínica dos pacientes incluídos no estudo.	33
Tabela 3: Frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene <i>SELP</i> .	34

Tabela 4: Análise de associação do polimorfismo rs6131 do gene *SELP*, com as variáveis clínico laboratoriais de pacientes com anemia falciforme de acordo com o modelo codominante. 35

Tabela 5: Análise de associação do polimorfismo rs6133 do gene *SELP*, com as variáveis clínico laboratoriais de pacientes com anemia falciforme de acordo com o modelo codominante. 36

Tabela 6: Análise de associação do polimorfismo rs1800805 do gene *SELP*, com as variáveis clínico laboratoriais de pacientes com anemia falciforme de acordo com o modelo sobredominante. 37

Tabela 7: Análise de associação dos alelos dos SNPs rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene *SELP* com variáveis clínicas de pacientes com AF. 38

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
β^6	Posição 6 da cadeia globínica beta

β^s	Cadeia globínica beta com alteração para a formação da HbS
AF	Anemia Falciforme
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BI	Bilirrubina indireta
BT	Bilirrubina total
CRs	Repetições consenso
CRD	Domínio N-terminal de lectina dependente de cálcio
CVO	Crise vaso-oclusiva
DF	Doença Falciforme
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
EGF	Domínio semelhante ao fator de crescimento
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
ET-1	Endotelina-1
Hb A	Hemoglobina A
Hb AS	Indivíduo portador do traço falciforme
Hb C	Hemoglobina C
Hb D	Hemoglobina D
Hb F	Hemoglobina fetal
Hb S	Hemoglobina S
Hb S/ β^o	S/ β^o talassemia
HBB	Gene da β globina
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HU	Hidroxiuréia
ICAM-1	Do inglês, intercelular adhesion molecule 1
IL	Interleucina
LDH	Lactato desidrogenase
MAF	Do inglês, minor allele frequency
NACF	Necrose asséptica de cabeça do fêmur
NET	Do inglês, Neutrophil extracellular trap
NO	Óxido nítrico
PSGL-1	Glicoproteína ligante da P-selectina 1
q	Braço longo do cromossomo

RBC	Do inglês, Red blood cells
ROS	Do inglês, Reactive oxygen species
SELP	Gene que codifica a P-selectina
SNP	Do inglês, Single nucleotide polymorphism
STA	Síndrome torácica aguda
sP-selectina	P-selectina solúvel
TLR4	Do inglês, Toll like receptor 4
VCAM-1	Do inglês, Vascular cell adhesion protein 1
VCM	Volume corpuscular médio

SUMÁRIO

2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA DA ANEMIA FALCIFORME	13
2.2 FISIOPATOLOGIA DA ANEMIA FALCIFORME	14
2.3 COMPLICAÇÕES CLÍNICAS DA ANEMIA FALCIFORME	17
2.4 P-SELECTINA	20
2.5 GENE SELP	23
2.6 POLIMORFISMOS GENÉTICOS NO GENE SELP	24
3 OBJETIVOS	27
3.1 OBJETIVO GERAL	27
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO	28
4.2 DEFINIÇÃO DOS PARTICIPANTES	28
4.3 ASPECTOS ÉTICOS	28
4.4 COLETA DE MATERIAL E DADOS CLÍNICOS	29
4.5 ANÁLISE MOLECULAR	30
4.5.1 Extração de DNA genômico	30
4.5.2 Genotipagem dos polimorfismos	30
4.6 DOSAGEM DE sP-SELECTINA	30
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
5 RESULTADOS	32
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA COORTE	32
5.2 GENOTIPAGEM DOS SNPS DO GENE SELP	33
5.3 ASSOCIAÇÃO DOS SNPS DO GENE SELP COM VARIÁVEIS CLÍNICO-LABORATORIAIS	34
5.4 NÍVEIS SÉRICOS DE SP-SELECTINA DE ACORDO COM AS COMPLICAÇÕES CLÍNICAS DA AF E VARIANTES DE SELP	40
6 DISCUSSÃO	44

7 CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS	50
ANEXO I – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA – UFPE	59
ANEXO II – TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	60
CURRÍCULO LATTES	63

1 INTRODUÇÃO

A anemia falciforme (AF) é uma doença hereditária autossômica recessiva caracterizada pela presença de hemácias falcizadas, aumento da adesão celular, hemólise crônica e inflamação. Estes eventos contribuem para a ativação de leucócitos e de plaquetas circulantes, além do aumento de citocinas pró-inflamatórias, resultando em episódios de vaso-occlusão, seguido por isquemia e infarto em vários tecidos. A ocorrência desses eventos, juntamente com a hemólise, compõe um conjunto de fatores fisiopatológicos determinantes da grande maioria das complicações clínicas nos pacientes com AF. A ocorrência das complicações clínicas é bastante variável entre os pacientes, sendo mais comum as crises de dor, priapismo, síndrome torácica aguda, osteonecrose, úlceras maleolares, insuficiência renal, dactilite, sequestro esplênico e acidente vascular cerebral (AVC).

As crises vaso-oclusivas (CVO) na AF são eventos complexos que envolvem a interação de muitas moléculas, dentre as quais se destaca a P-selectina, que é uma molécula de aderência celular expressa rápida e cronicamente na superfície das células endoteliais e das plaquetas ativadas. A P-selectina é uma glicoproteína transmembrana de 140 kDa, que é armazenada nos corpos de Weibel-Palade, presentes nas células endoteliais e nos grânulos alfa das plaquetas em repouso. Na situação de ativação celular, durante processos de inflamação e de hipóxia, por exemplo, a P-selectina é rapidamente translocada para a membrana celular.

Na superfície endotelial, a P-selectina medeia o rolamento e a adesão dos leucócitos e das hemácias falcizadas à superfície do vaso. Dessa forma, a ativação endotelial vascular aberrante ou persistente causada por gatilhos inflamatórios pode resultar na alta expressão da P-selectina e, por sua vez, aumentar a adesão de leucócitos e de hemácias falcizadas, levando a danos à vasculatura e contribuindo para a vaso-occlusão. Assim, sabendo da heterogeneidade clínica observada entre os pacientes com AF e da relevância da investigação de marcadores genéticos de risco, a P-selectina surge como um potencial marcador molecular, dada sua importância na fisiopatologia na AF.

O gene *SELP*, que codifica a proteína P-selectina, está localizado no cromossomo 1q24-q25 e apresenta 17 éxons, com cerca de 40 kb. Algumas variantes do gene *SELP* que podem afetar sequências reguladoras do gene e a

sequência peptídica da proteína foram relatadas, dentre elas se destacam as variantes *missense* G1057A Ser290Asn (rs6131) e G1980T Leu599Val (rs6133) presentes nos éxons 7 e 12, respectivamente e a variante -1969G/A (rs1800805) da região flanqueadora 5'.

Evidências apontam que estes polimorfismos estão associados com a modulação dos níveis plasmáticos da sP-selectina e, portanto, podem influenciar na susceptibilidade a doenças por meio deste mecanismo. Apesar de serem extensivamente estudados no contexto de outras doenças inflamatórias, esta relação ainda não foi elucidada na AF.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA DA ANEMIA FALCIFORME

O primeiro relato da anemia falciforme (AF) na literatura foi o caso de um jovem de 20 anos, que morava nos Estados Unidos e que possuía hemácias alongadas e em formato de foice no estirado sanguíneo (HERRICK, 1910). Ao longo dos anos foi sendo desvendado que a doença é causada por uma alteração genética na molécula de hemoglobina, sendo assim considerada a primeira doença molecular descrita. A AF é considerada uma das doenças hereditárias monogênicas mais comuns no mundo, e ocorre devido a uma mutação de apenas um par de bases, adenina por timina no sexto códon do gene *HBB*, resultando na substituição de aminoácidos, resíduo de ácido glutâmico hidrofílico por um resíduo de valina hidrofóbico (*HBB*, glu6val, rs334), na cadeia da β -globina e consequentemente originando uma hemoglobina (Hb) estruturalmente anormal, a Hb S (AKINGBOLA *et al.*, 2015).

Doença falciforme (DF) é um grupo de doenças causadas por desordens genéticas, as hemoglobinopatias, na presença da hemoglobina S, sendo a AF, doença autossômica recessiva caracterizada pela homozigose da Hb S, a forma mais comum e grave representando cerca de 70% dos casos de DF (PIEL *et al.*, 2010). Outras formas de DF são heterozigotos onde além da hemoglobina S, há a presença de outra hemoglobina variante como a Hb C, Hb D ou com a beta talassemia (Hb S/ β^+ talassemia e Hb S/ β^0 talassemia), nesse cenário a gravidade varia. Na condição de heterozigoto Hb AS, os indivíduos possuem apenas o traço falciforme, neste caso, são assintomáticos (STEINBERG, 2008; WARE *et al.*, 2017).

A prevalência da AF é alta em regiões da África e do Oriente Médio (PIEL *et al.*, 2010). O comércio de escravos e os movimentos migratórios populacionais favoreceram a distribuição do alelo β^S em outras regiões (PIEL *et al.*, 2017) tais como nos Estados Unidos e regiões da América Latina, principalmente o Brasil e Caribe (HUTTLE *et al.*, 2015). Entre 25.000 e 30.000 indivíduos com AF e cerca de 7 milhões de portadores (Hb AS) vivem no Brasil, desta forma cerca de 3.500 bebês com AF nascem a cada ano (CANÇADO; JESUS, 2007).

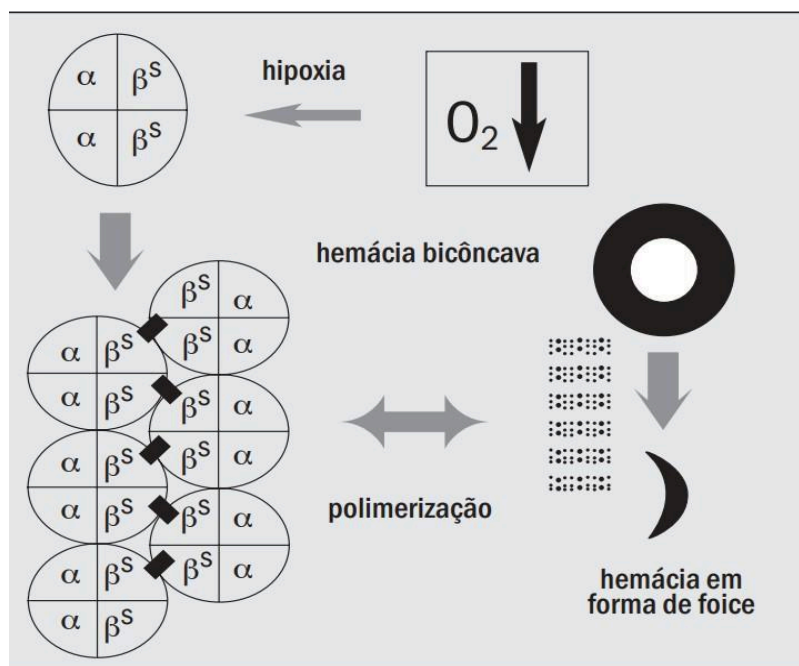
Com base nisso, a AF é considerada um problema de saúde pública no Brasil. Algumas regiões do país apresentam maior prevalência da doença, como no

estado de Pernambuco, que em torno de 1 em cada 23 recém-nascidos vivos possui o traço falciforme e 1 em cada 7.000 nasce com a doença falciforme (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Por ser uma doença de alta prevalência e gravidade, em 2001 o Ministério da Saúde, mediante a portaria nº 822/01, determinou que a pesquisa de hemoglobinopatias fosse realizada como parte do Programa de Triagem Neonatal, para facilitar o diagnóstico precoce e isso refletir na melhoria da qualidade de vida dos pacientes (LOBO *et al.*, 2014).

2.2 FISIOPATOLOGIA DA ANEMIA FALCIFORME

A anemia falciforme (AF), também conhecida como drepanocitose, é a forma mais grave, e incapacitante, da DF (REES *et al.*, 2010). A troca de aminoácidos ácido glutâmico por valina na cadeia da β -globina é um evento chave na fisiopatologia da AF. A valina é um aminoácido neutro, o que favorece a interação intermolecular entre os tetrâmeros de hemoglobina e, conseqüentemente, a polimerização da Hb S no interior dos eritrócitos. Dessa forma, a estrutura quaternária muda de conformação e a molécula adquire a forma de estrutura primária, tornando a molécula insolúvel, ocorrendo a eritro-falcização (Figura 1) (PICCIN *et al.*, 2019).

Figura 1: Representação do processo de indução à falcização das hemácias pela polimerização da desoxi-hemoglobina diante da baixa concentração de oxigênio.



Fonte: Galiza Neto; Pitombeira, 2003.

Algumas condições podem favorecer a polimerização da Hb S, como a concentração intraeritrocitária de Hb S, pH, temperatura, redução de água e íons celulares (desidratação) e presença de outras hemoglobinas como a Hb A ou a hemoglobina fetal (Hb F). A polimerização ocorre quando as moléculas de Hb S desencadeiam as interações intermoleculares hidrofóbicas, e desta forma, se organizam em longos polímeros, ocorrendo grandes alterações morfológicas e funcionais dos eritrócitos, como sua falcização (Figura 1) (SONATI; COSTA, 2008).

Quando acontecem estes ciclos de polimerização e despolimerização, danos ao citoesqueleto da membrana eritrocitária tornam as células irreversivelmente falcizadas (STEINBERG, 2008). Como ocorre a modificação das propriedades da membrana celular, sua flexibilidade é reduzida e ainda há uma maior aderência ao endotélio vascular (PICCIN *et al.*, 2019).

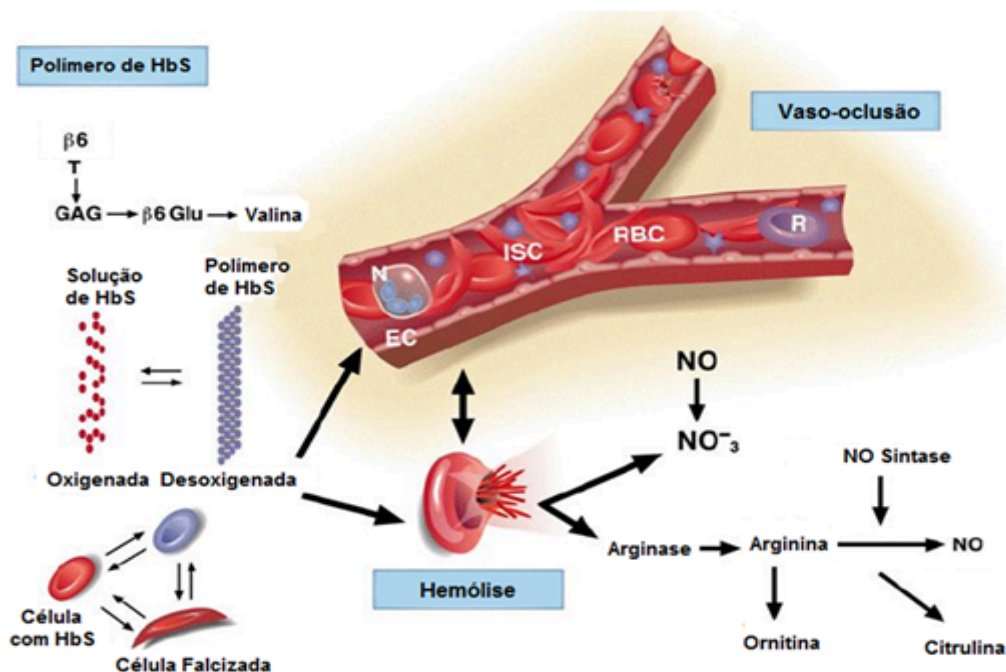
Em condições de baixa disponibilidade de oxigênio, aumento da acidez e desidratação, a polimerização da Hb S é intensificada (SUNDD *et al.*, 2019). Isso acontece porque a valina é responsável por potencializar interações hidrofóbicas intraeritrocitária entre os tetrâmeros da Hb S (EATON, 2020). Este processo induz a rigidez da membrana eritrocitária e a redução da elasticidade e da deformabilidade característica da membrana, causando uma deformação nos eritrócitos semelhante à “forma de foice” (Figura 2). Além disso, os eritrócitos também passam a

apresentar aumento da capacidade de aderência ao endotélio vascular (KUYPERS, 2014).

O processo de polimerização da molécula da Hb S induz anemia hemolítica, vaso-oclusão e, conseqüentemente, episódios de crises de dolorosas vaso-oclusivas (SAAH *et al.*, 2022). As células falcizadas possuem alta aderência ao endotélio vascular, sendo a principal causa da vaso-oclusão em pacientes com AF. A vaso-oclusão e a hemólise são os processos fisiopatológicos da doença associados às manifestações clínicas (KATO *et al.*, 2017).

As hemácias falcizadas aderem ao endotélio vascular, obstruindo a microcirculação, dificultando o fluxo sanguíneo e o aporte da oxigenação, e episódios de hemólise (PICCIN *et al.*, 2019). Assim, se tem como consequência a formação de lesões isquêmicas em vários tecidos e órgãos humanos, além de eventos como infarto tecidual, havendo a indução de respostas inflamatórias de caráter contínuo, acentuando a disfunção do endotélio vascular (STEINBERG, 2008).

Figura 2: Fisiopatologia da doença falciforme.



Adaptado de Steinberg 2008.

A hemólise crônica promove a liberação de hemoglobina livre, responsável

pelo sequestro de óxido nítrico (NO), um agente vasodilatador (KATO *et al.*, 2017). A hemólise crônica também promove o aparecimento de condições como a hipóxia, colelitíase, intolerância ao exercício físico, fadiga, hipercoagulabilidade e vasculopatia (KATO *et al.*, 2018; KATO, HEBBEL, STEINBERG, 2009). Citocinas solúveis, quimiocinas e baixos níveis de NO, então, potencializam a inflamação, a disfunção endotelial e a lesão de órgãos-alvo – com a presença de crises dolorosas de oclusão vascular (CONRAN; BELCHER, 2018). Além das crises de dor, pacientes falciformes apresentam manifestações clínicas como acidente vascular encefálico, derrames, infartos, priapismo e comprometimento vascular cerebral (BALLAS *et al.*, 2010).

O paciente falciforme, durante os primeiros meses de vida, não apresenta sintomas relacionados à drepanocitose, sendo assintomático. Isso é relacionado aos níveis elevados da Hb F presente em recém-nascidos. A Hb F é capaz de impedir a polimerização da Hb S, atribuindo proteção frente aos sintomas da doença (STEINBERG, 2020). A partir do nascimento, a Hb F diminui progressivamente, enquanto a Hb S mutante se torna dominante após o sexto mês de vida, e induz maior evidência nos sintomas da doença (PATRINOS; ANTONARAKIS, 2010).

2.3 COMPLICAÇÕES CLÍNICAS DA ANEMIA FALCIFORME

Na AF as complicações clínicas são diferentes de uma pessoa para outra, alguns podem ter complicações mais severas, várias intercorrências e outros podem ter eventos mais leves e com menor frequência (AZAR; WONG, 2017). A faixa etária também pode ter influência nas manifestações clínicas, como por exemplo, em pessoas mais jovens o mais comum são as crises dolorosas, episódios de vaso-oclusão, a síndrome torácica aguda e o acidente vascular cerebral (STEINBERG, 2008).

Um modelo de sobreposição de sub-fenótipos da AF surgiu para explicar a ocorrência das manifestações clínicas nesses indivíduos: um sub-fenótipo de "viscosidade - vaso-oclusão" em que indivíduos com maiores níveis de Hb têm mais episódios de falcização, culminando em aderência eritrocitária e vaso-oclusão. Esse sub-fenótipo envolve complicações como crise de dor, síndrome torácica aguda (STA) e osteonecrose. Um segundo sub-fenótipo de "hemólise - disfunção endotelial" está relacionado com altos níveis de marcadores hemolíticos. Esse

sub-fenótipo envolve complicações como hipertensão pulmonar, priapismo, úlceras de membros inferiores e doença cerebrovascular, que inclui complicações como ataque isquêmico transitório, infarto silencioso, Doppler Transcraniano de alto risco e acidente vascular cerebral (AVC) (Figura 3) (KATO *et al.*, 2007).

Figura 3: Modelo de sobreposição de sub-fenótipos da AF. Sugere-se que um conjunto de complicações hemolítico-endoteliais, possam influenciar no desenvolvimento de úlceras maleolares, priapismo, hipertensão pulmonar e talvez no AVC-não hemorrágico.



Fonte: Modificado de Kato *et al.*, 2007.

As crises vaso-oclusivas (CVO) são as manifestações clínicas mais comuns relacionadas à doença. Também conhecidas como crises de dor, elas são os principais motivos de internações em hospitais em todas as faixas etárias (DARBARI *et al.*, 2020). Os episódios de CVO resultam de eventos de oclusão vascular em diversos tecidos, com lesão de isquemia-reperfusão, ocorrendo mais comumente nas extremidades, tórax, abdome e costas (WILLIAMS, Thomas N.; THEIN, 2018). Diversos fatores podem desencadear a CVO, como infecções, febre, desidratação, acidose, exposição a altas temperaturas, umidade e a própria dor (ARZOUN *et al.*, 2022). Quando ocorrem oclusões de vasos da microcirculação, o infarto tecidual e necrose são frequentes, comprometendo diversos tecidos e órgãos. O manejo das CVOs é realizado por meio do controle da dor com fármacos opioides e não opioides (ARZOUN *et al.*, 2022).

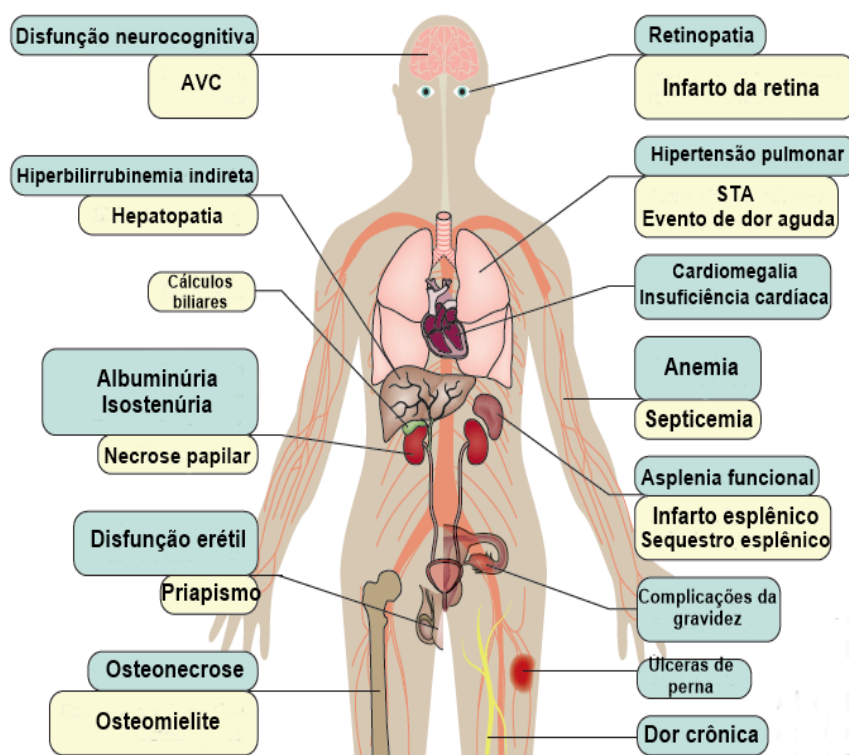
A síndrome torácica aguda (STA) é uma complicação pulmonar da doença falciforme. Depois da CVO, ela é a segunda maior causa de hospitalização dos pacientes e muitas vezes pode levar à morte na fase adulta e morbidade na infância

(JAIN *et al.*, 2017). A STA é definida como uma complicação pulmonar de indivíduos com AF que apresentam febre, dor torácica, infiltrado pulmonar evidenciado em radiografia de tórax e leucocitose (DESAI; ATAGA, 2013). A ocorrência da STA é multifatorial e alguns eventos podem contribuir para sua ocorrência como a vaso-oclusão, embolia gordurosa pulmonar, atelectasia e infecções (PATTERSON *et al.*, 2018).

A osteonecrose é uma complicação crônica da AF, que atinge principalmente indivíduos do sexo masculino até os 50 anos de idade. Esta complicação é definida como a destruição da superfície articular óssea, devido a episódios de isquemia, infarto e necrose tecidual (ADESINA; NEUMAYR, 2019). Os episódios de vaso-oclusão comprometem o fluxo sanguíneo nas articulações e aumentam a probabilidade de ocorrência da osteonecrose (ADESINA; NEUMAYR, 2019). A osteonecrose ou necrose avascular pode acontecer em qualquer osso, porém é mais comum na cabeça femoral, seguido dos quadris, joelhos e ombros (WILLIAMS, Thomas N; THEIN, 2018). Na AF, é uma complicação associada a alta morbidade e muitos casos requerem procedimentos cirúrgicos, como a artroplastia do quadril, como tratamento (ADESINA; NEUMAYR, 2019).

Por se tratar de uma doença sistêmica, onde os episódios vaso-oclusivos podem afetar praticamente todos os órgãos e tecidos, podem ser observadas outras complicações diversas como o sequestro esplênico na infância, o acidente vascular cerebral, a colelitíase, úlceras de perna, priapismo, retinopatias, cardiopatias, entre outras (Figura 4) (BALLAS *et al.*, 2010; STEINBERG, 2008).

Figura 4: Complicações clínicas comuns da anemia falciforme.



Fonte: Adaptado de Kato et al. (2018).

Além disso, apesar de ser uma doença autossômica recessiva, os indivíduos com AF apresentam uma importante heterogeneidade clínica, variando de casos leves, até casos mais graves com vários internamentos por crises de dor e lesão de múltiplos órgãos. Além da influência de fatores ambientais e estilo de vida, fatores genéticos desempenham importante papel na modulação de risco de desenvolvimento das complicações da doença (PINCEZ *et al.*, 2022).

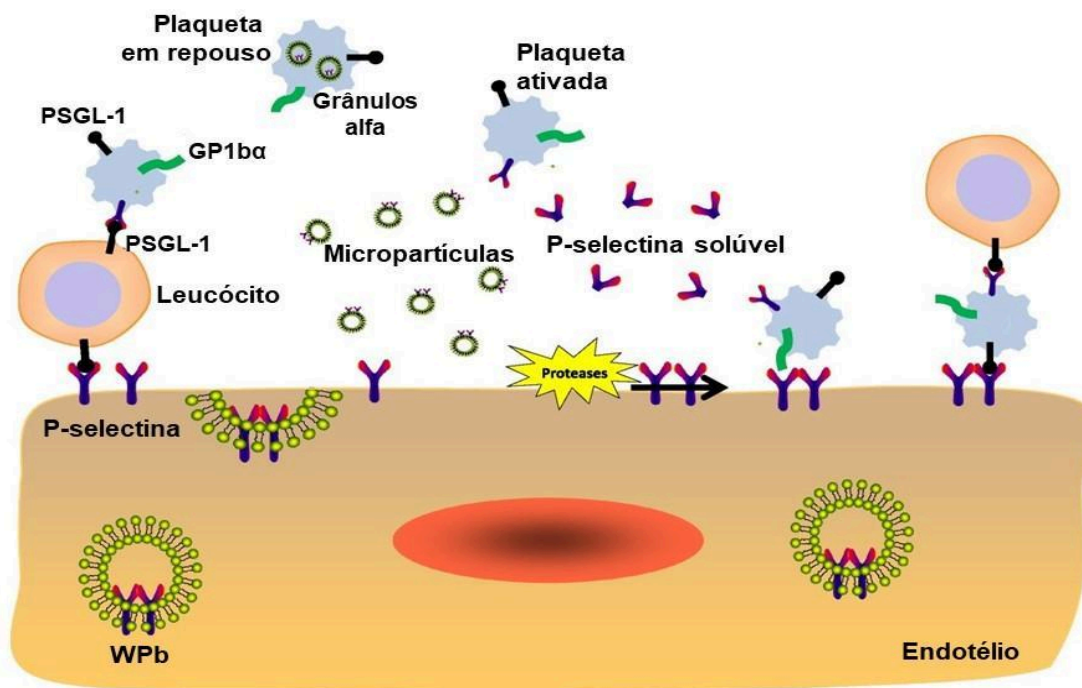
Os níveis de Hb F, os haplótipos da globina β^S e a presença em conjunto da alfa talassemia foram descritos como importantes moduladores genéticos de risco na AF (HATZLHOFFER *et al.*, 2021; SERJEANT *et al.*, 2017). Apesar de explicarem os fenótipos de uma parcela dos pacientes, a associação destes moduladores clássicos não é suficiente para esclarecer a variabilidade clínica de grande parte dos pacientes (DRISS *et al.*, 2009).

Dessa forma, diversos estudos que foram desenvolvidos para investigar variantes genéticas, como polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), em genes envolvidos em vias da inflamação, metabolismo do óxido nítrico, adesão celular, hemólise, trombogênese, entre outros, têm apontado associações relevantes com os desfechos da doença (BATISTA *et al.*, 2021; FERTRIN; COSTA, 2010).

2.4 P-SELECTINA

A P-selectina é uma glicoproteína de membrana encontrada nos grânulos alfa das plaquetas e nos corpúsculos de Weibel-Palade, das células endoteliais, com um peso molecular de aproximadamente 140 kilodaltons (kDa). Durante o processo inflamatório, a hipóxia ou após a ativação celular por agonistas, como a trombina, a P-selectina é redistribuída rapidamente na superfície celular, levando ao rolamento dos leucócitos, como neutrófilos e monócitos, repercutindo na aderência das células ao endotélio vascular (Figura 5). Assim, a P-selectina medeia a interação entre plaquetas, células endoteliais e leucócitos (ATALAR *et al.*, 2001; BLANN; LIP, 1997)

Figura 5: Interações celulares da P-selectina. A P-selectina é armazenada em células endoteliais e plaquetas nos corpúsculos de Weibel-Palade (WPb) e grânulos alfa, respectivamente. Após a ativação, esses grânulos translocam-se para a superfície onde a P-selectina é exposta na membrana plasmática. A P-selectina expressa na superfície tem a capacidade de se ligar ao PSGL-1 em leucócitos e plaquetas ou ao GP1ba nas plaquetas. A clivagem proteolítica da p-selectina após a ativação celular dão lugar a uma forma solúvel de P-selectina



Fonte: Adaptado de Schutzman et al., 2019.

Dessa forma, essa glicoproteína é considerada uma importante molécula de adesão, sendo de grande interesse, uma vez que pode contribuir para a investigação dos mecanismos responsáveis pelos fenômenos vaso-oclusivos (FITZGERALD *et al.*, 1986; TENAGLIA *et al.*, 1997). Além disso, em estudos com

camundongos com DF foi demonstrado que as plaquetas ativadas se ligam aos neutrófilos para formar agregados via interação com P-selectina (EMBURY *et al.*, 2004; ZHANG *et al.*, 2016).

A ativação celular resulta na quebra e na liberação proteolítica da P-selectina na circulação como P-selectina solúvel (sP-selectina), que é reconhecida como um marcador de disfunção endotelial e de hiperatividade plaquetária (KAUR *et al.*, 2020; PANICKER *et al.*, 2017). A sP-selectina, pode induzir a formação de partículas pró-coagulantes. A glicoproteína ligante da P-selectina (PSGL-1) é caracterizado como uma mucina homodimérica de 240 kDa (consistindo em duas cadeias polipeptídicas de 120 kDa), que é expressa em quase todos os leucócitos (MERTEN; THIAGARAJAN, 2004).

A ligação da díade P-selectina e PSGL-1 forma agregados plaquetas-leucócitos, iniciando múltiplos eventos de sinalização. Esta interação da P-selectina com PSGL-1 induz a regulação positiva do fator tecidual, além da liberação de citocinas pró-inflamatórias e da produção de micropartículas pró-coagulantes. Assim, há contribuição para a formação de um estado pró-trombótico (MERTEN; THIAGARAJAN, 2004).

Dessa forma, a P-selectina pode desempenhar um papel importante da fisiopatologia da AF. Apesar de contribuir para a senescência hepática a longo prazo, a deficiência de P-selectina em camundongos falcêmicos inibe a vaso-oclusão hepática (VATS *et al.*, 2021). Além disso, a P-selectina potencializa a inflamação induzida pelo grupo heme livre, favorecendo o dano pulmonar agudo na AF (GHOSH *et al.*, 2019). Estudos com camundongos e humanos com AF mostraram que estes possuem agregados de plaquetas-neutrófilos acentuadamente aumentados em comparação com controles (POLANOWSKA-GRABOWSKA *et al.*, 2010).

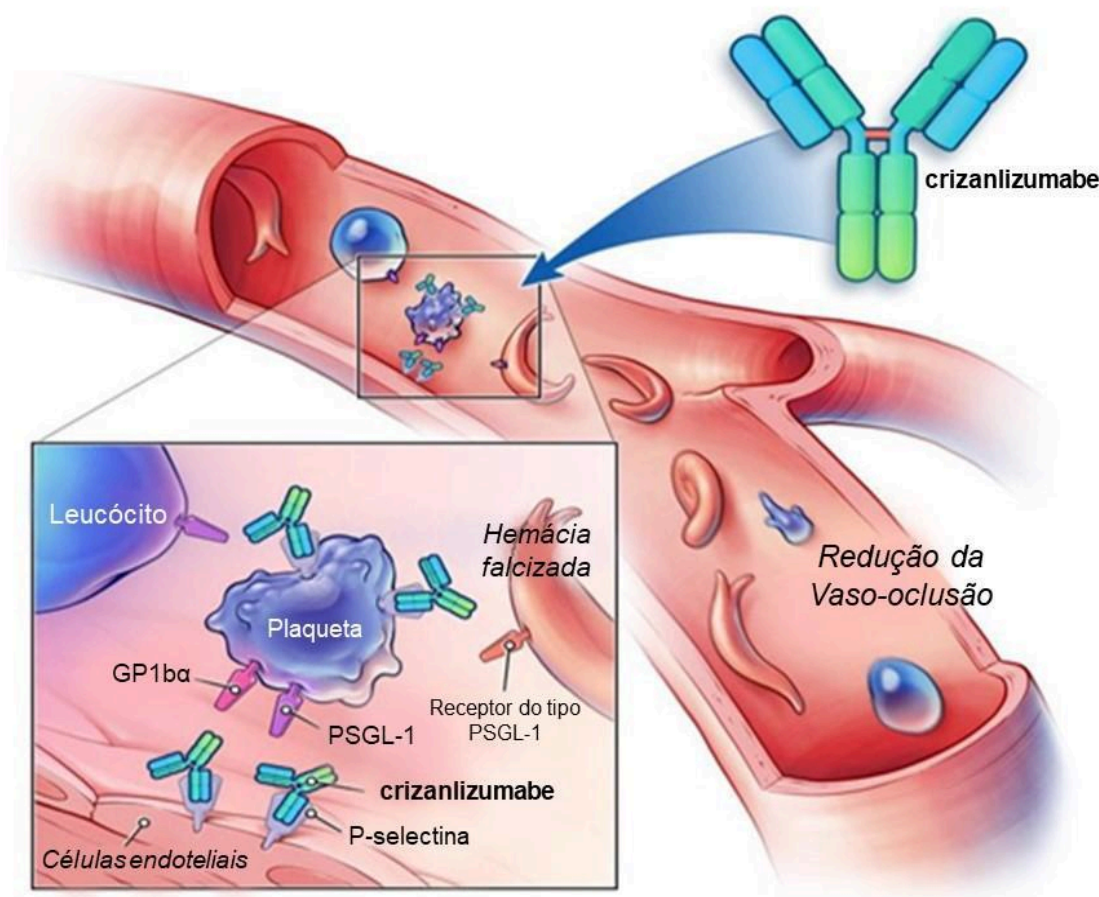
Além disso, agentes antiplaquetários, e um anticorpo anti-P-selectina, levaram a forte diminuição da formação de agregados plaquetas-leucócitos, diminuição da ativação de neutrófilos e da lesão pulmonar em camundongos. Esses dados indicam papel relevante da P-selectina na inflamação vascular e da terapia antiplaquetária e anti-P-selectina no controle da lesão tecidual na AF (POLANOWSKA-GRABOWSKA *et al.*, 2010).

Neste contexto, pacientes com DF, submetidos a terapia com o crizanlizumabe, um anticorpo monoclonal anti-P-selectina, mostraram taxas de

crises vaso-oclusivas reduzidas, além de aumento no tempo de ocorrência da primeira crise após o tratamento. Além disso, foi observada menor taxa de desenvolvimento de complicações como o sequestro esplênico após a ocorrência uso do crizanlizumabe (ATAGA *et al.*, 2017; KUTLAR *et al.*, 2019).

O crizanlizumabe se liga à P-selectina inativando-a e impedindo que ela se ligue ao PSGL-1, evitando assim que haja a adesão de plaquetas, leucócitos e hemácias falcizadas ao endotélio vascular ativado e consequentemente o processo de vaso-oclusão (KUTLAR *et al.*, 2019) (Figura 6). Com isso, a terapia com anticorpo anti-P-selectina agora é aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) americana, para a prevenção de crises vaso-oclusivas em pacientes com DF (KARKI; KUTLAR, 2021).

Figura 6: Mecanismo de ação do crizanlizumabe. O crizanlizumabe é um anticorpo monoclonal que se liga à P-selectina. O bloqueio da P-selectina pode impedir as interações célula-célula entre as células sanguíneas e as células endoteliais e, assim, eliminar ou reduzir a vaso-oclusão.



Fonte: Adaptado de Karki; Kutlar, 2021.

2.5 GENE *SELP*

Junto com a P-selectina, outras moléculas compõem a família das selectinas, são elas a E-selectina e a L-selectina. Os genes que codificam as três selectinas estão agrupados no cromossomo 1q21–q24. O gene que codifica a P-selectina, o *SELP* está localizado no braço longo do cromossomo 1 (1q24-q25) e abrange >50 kilobases, contém 16 íntrons e 17 éxons, a maioria dos quais codificam domínios estruturalmente distintos da proteína (BARBAUX *et al.*, 2001; HERRMANN *et al.*, 1998).

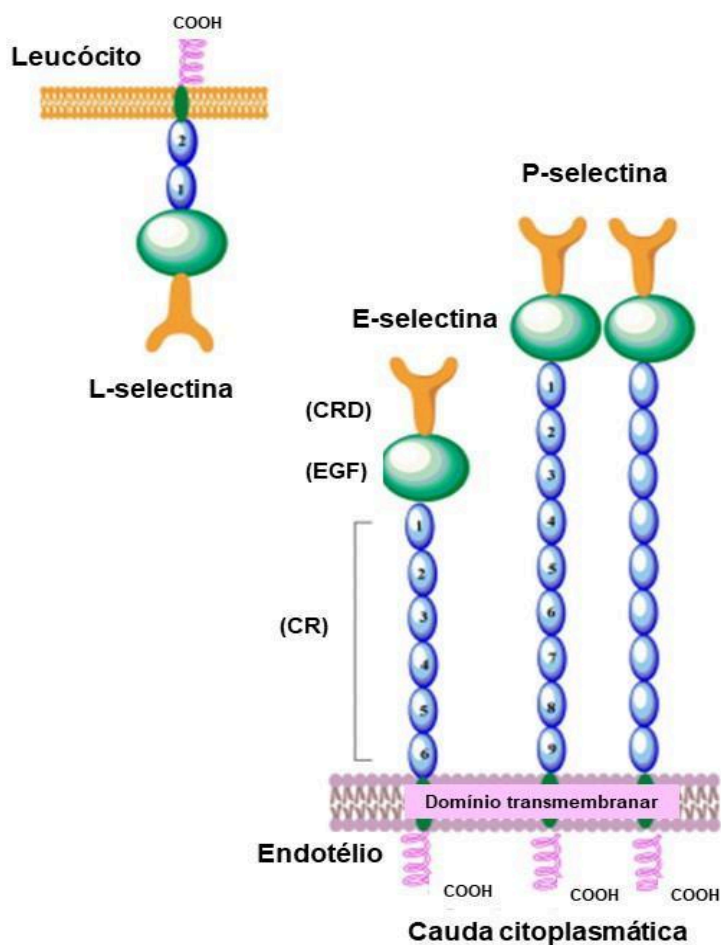
As moléculas de selectina começam com um domínio N-terminal de lectina dependente de cálcio (CRD), responsável pelo reconhecimento de carboidratos, seguido por um domínio semelhante ao fator de crescimento (EGF), nove repetições consenso em tandem semelhantes às das proteínas de ligação ao complemento, um domínio transmembranar e uma cauda citoplasmática (Figura 6). (MORRIS *et al.*, 2009). O gene *SELP* é mais longo em relação aos outros genes de selectina porque contém nove repetições consenso (CRs) em comparação com seis em E-selectina e duas em L-selectina (MORRIS *et al.*, 2009; TVAROŠKA *et al.*, 2020) (Figura 7).

Embora a P-selectina seja expressa como uma glicoproteína de membrana funcional, a sP-selectina, uma isoforma solúvel mais curta foi relatada. Apesar de poder ser gerada por quebra proteolítica, a sP-selectina foi descrita em humanos como o produto do *splicing* alternativo do éxon contendo o domínio transmembranar (BARBAUX *et al.*, 2001).

Até o momento, diversas variantes polimórficas no gene *SELP* têm sido intensivamente estudadas e associadas com a patogênese de doenças trombóticas, cardiovasculares, ateroscleróticas e inflamatórias, como lúpus e diabetes mellitus (BARBAUX *et al.*, 2001; HERRERA-MAYA *et al.*, 2020; KOU *et al.*, 2017; MA *et al.*, 2020; MORRIS *et al.*, 2009).

Figura 7: Representação esquemática das estruturas das selectinas P-, E- e L-. As selectinas são glicoproteínas de superfície celular compostas por cinco domínios: o domínio de lectina dependente de cálcio N-terminal (CRD), o domínio semelhante ao fator de crescimento epidérmico (EGF), a série

de domínios de repetições de consenso (CR), o domínio transmembranar e a cauda citoplasmática curta.

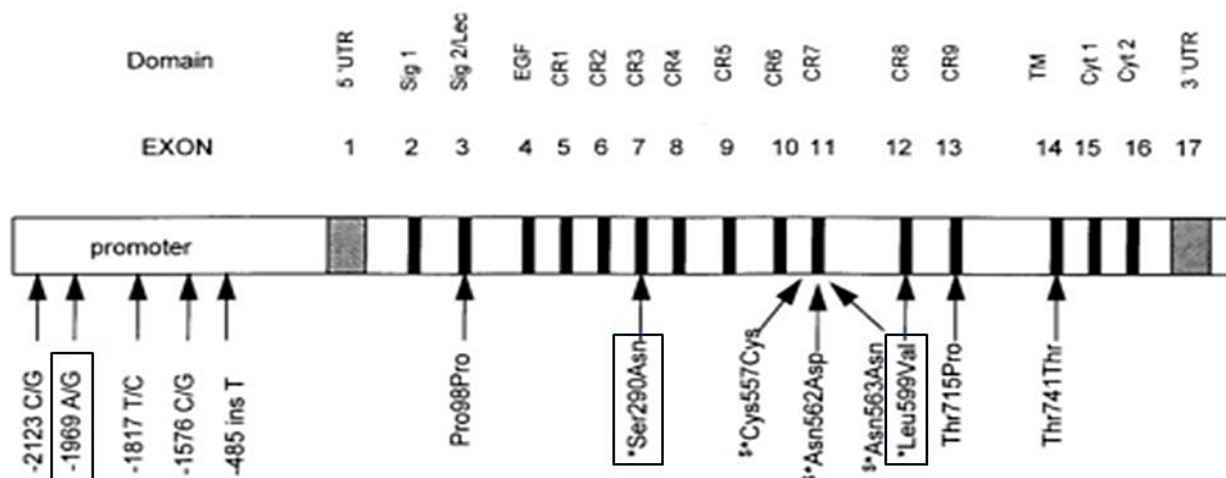


Fonte: Adaptado de Tvaroška et al., 2020.

2.6 POLIMORFISMOS GENÉTICOS NO GENE *SELP*

Dentre os polimorfismos de nucleotídeo único descritos no gene *SELP*, alguns podem afetar as sequências reguladoras do gene e a sequência peptídica da proteína. Dentre eles destacam-se as variantes *missense* *G1057A* Ser290Asn (rs6131) e *G1980T* Val599Leu (rs6133) presentes nos éxons 7 e 12, respectivamente e a variante *-1969G/A* (rs1800805) da região flangeadora 5' (Figura 8).

Figura 8: Polimorfismos no gene da P-selectina humana.



Fonte: Herrmann et al., 1998.

Evidências apontam que estes polimorfismos estão associados com a modulação dos níveis plasmáticos da sP-selectina e, portanto, poderiam influenciar na susceptibilidade a doenças (BARBAUX *et al.*, 2001; HERRERA-MAYA *et al.*, 2020; REINER *et al.*, 2008). A variante *missense* G1057A Ser290Asn (rs6131), localizada na terceira repetição consenso da P-selectina de importância potencial para ligação a ligantes, leva a troca de uma serina por asparagina na posição 290 da proteína (MARTEAU *et al.*, 2008; TAO *et al.*, 2016; TIMASHEVA *et al.*, 2015).

Análises de bioinformática mostraram que para o polimorfismo *SELP* Ser290Asn, o alelo 290Asn (A) gera um sítio de ligação para as proteínas Srp40. Essas proteínas têm múltiplas funções no processo de *splicing* do pré-mRNA, bem como na regulação do *splicing* alternativo, o que leva à produção de isoformas proteicas (HERRERA-MAYA *et al.*, 2020). Assim, o polimorfismo *SELP* Ser290Asn pode afetar a transcrição do gene *SELP* e a expressão do nível de P-selectina (TAO *et al.*, 2016). Evidências apontam que o genótipo AA deste polimorfismo estava associado com menores níveis de P-selectina plasmática (HERRERA-MAYA *et al.*, 2020). Estudos de associação mostraram relação do rs6131 com a ocorrência de síndrome coronariana aguda, hipertensão essencial e infarto do miocárdio (HERRERA-MAYA *et al.*, 2020; TIMASHEVA *et al.*, 2015; ZHOU *et al.*, 2014).

O polimorfismo G1980T Val599Leu (rs6133) que ocorre no éxon 12 do gene *SELP*, leva a alterações conformacionais na proteína devido a troca do aminoácido

valina por leucina na posição 599. O Val599Leu ocorre próximo ao domínio transmembranar da P-selectina em uma região que pode ter um papel funcional na interação entre a P-selectina e os leucócitos e prevê-se que a substituição de aminoácidos seja funcionalmente deletéria (MORRIS *et al.*, 2009; REINER *et al.*, 2008).

É possível que o alelo G do rs6133 resulte em uma proteína com ligação mais forte ao ligante e, contribuindo para um aumento da atividade inflamatória, resultante do maior recrutamento de leucócitos para os locais de inflamação (MORRIS *et al.*, 2009). O alelo Leu599 foi relacionado com menores níveis de P-selectina (REINER *et al.*, 2008). Além disso o polimorfismo SELP Val599Leu já foi associado com o risco de AVC tromboembólico, lúpus eritematoso sistêmico e susceptibilidade e severidade da COVID-19 (MORRIS *et al.*, 2009; SRIVASTAVA *et al.*, 2022; ZEE *et al.*, 2004).

Por fim, o polimorfismo -1969 G/A (rs1800805) da região regulatória 5' do gene *SELP*, localiza-se em um sítio de ligação consenso para os fatores de transcrição AP-1 e c-Fos, podendo dessa forma afetar a expressão do gene (HERRMANN *et al.*, 1998). O polimorfismo rs1800805 mostrou-se associado com os níveis séricos de sP-selectina em pacientes com doença coronariana, onde o genótipo AA mostrou alta concentração sérica de sP-selectina (BARBAUX *et al.*, 2001). O rs1800805 também mostrou-se associado com o risco aumentado de doença cardiovascular, doença coronariana e infarto do miocárdio (KOU *et al.*, 2017; ZHOU *et al.*, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a associação de polimorfismos no gene *SELP* e dos níveis plasmáticos da sP-selectina e correlacionar esses achados com as complicações clínicas de pacientes com anemia falciforme acompanhados no hospital de hematologia da Fundação HEMOPE.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos do gene *SELP* G1057A Ser290Asn (rs6131), 1980T Leu599Val (rs6133) e -1969G/A (rs1800805) em pacientes com anemia falciforme;
2. Verificar a existência de associação entre as frequências alélicas e genotípicas encontradas com as manifestações clínicas em pacientes adultos com anemia falciforme;
3. Avaliar os níveis da sP-selectina em pacientes com anemia falciforme e relacionar com as variáveis clínico-laboratoriais e os genótipos dos polimorfismos do gene *SELP* estudados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO

Este trabalho trata-se de um estudo do tipo coorte retrospectivo com comparação interna de grupos. O projeto foi desenvolvido no Laboratório Central do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (LABCEN-UFPE). A Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE) – Recife foi incluída no projeto como instituição coparticipante, onde foram coletadas as amostras de sangue periférico dos pacientes participantes e realizadas as análises dos prontuários de acompanhamento médico dos mesmos.

4.2 DEFINIÇÃO DOS PARTICIPANTES

Durante o período de setembro/2021 até julho/2023 foram incluídos na pesquisa indivíduos com AF (Hb SS) acima de 18 anos, de ambos os sexos, cadastrados e acompanhados no HEMOPE, Recife-PE. Foram excluídos da pesquisa pacientes aparentados e pacientes em regime profilático de hipertransfusão e/ou em uso de hidroxiuréia ou ainda que tenham realizado os referidos tratamentos em menos de 3 meses antes da coleta. Dessa forma, foram incluídos neste estudo 327 indivíduos com AF. Destes, 184 (56,3%) eram do sexo feminino e 143 (43,7%) do sexo masculino. A mediana de idade destes indivíduos foi de 34 anos (mínimo 18 e máximo 63 anos).

4.3 ASPECTOS ÉTICOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPE (CEP/CCS/UFPE). Os participantes foram orientados sobre a proposta da pesquisa e quando em concordância, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), previamente aprovado pelo CEP (Anexos I e II).

4.4 COLETA DE MATERIAL E DADOS CLÍNICOS

De todos os indivíduos que se dispuseram a participar da pesquisa, após assinatura do TCLE, foram realizadas coletas de amostras de sangue periférico para realização das análises moleculares. Foram coletados 8,0 mL de sangue periférico em tubos contendo o anticoagulante ácido etilenodiamino tetracético (EDTA) para realização dos experimentos. As amostras coletadas foram conduzidas ao laboratório de Hematologia e Biologia Molecular do LABCEN- UFPE, onde foram processadas para que as análises moleculares pudessem ser realizadas.

Os dados clínicos (ocorrência das manifestações clínicas) e laboratoriais (hematológicos, bioquímicos e quantificação das hemoglobinas) foram obtidos pela análise dos prontuários médicos dos pacientes que compareceram regularmente ao ambulatório de Hematologia da Fundação HEMOPE. A ocorrência das seguintes complicações clínicas de caráter vaso-oclusivo foi analisada: frequência de crises de dor, síndrome torácica aguda e osteonecrose. Todas as complicações clínicas registradas adequadamente nos prontuários, desde a data de admissão no HEMOPE até a data da avaliação final dos prontuários (12/2022), foram computadas. De acordo com as complicações clínicas os pacientes foram alocados nos seguintes subgrupos:

1. Indivíduos que desenvolveram síndrome torácica aguda: composto por pacientes que apresentaram registro clínico de síndrome torácica aguda, acompanhada de exame de imagem (Raio-X) de tórax, mostrando a presença de infiltrado pulmonar;
2. Indivíduos que desenvolveram osteonecrose: composto por pacientes que apresentam exames de ressonância magnética e/ou raio-X mostrando lesão óssea, além de queixas ósseo-articulares e diagnóstico confirmado por ortopedista;

Adicionalmente todos os pacientes foram analisados de acordo com o número de crises vaso-oclusivas (CVOs) que necessitaram de atendimento hospitalar reportadas ao ano: < 3 CVOs/ano, 3 - 5 CVOs/ano e > 6 CVOs/ano).

4.5 ANÁLISE MOLECULAR

4.5.1 Extração de DNA genômico

A extração de DNA genômico foi realizada a partir dos leucócitos pela técnica de fenol-clorofórmio modificado (DAVIS *et al.*, 1986). Foram selecionados para este estudo três SNPs localizados no gene *SELP* G1057A Ser290Asn (rs6131), G1980T Leu599Val (rs6133) e -1969G/A (rs1800805) que apresentam MAF (do inglês, minor allele frequency) superior a 10% para população africana (YRI) e caucasiana (CEU).

4.5.2 Genotipagem dos polimorfismos

A metodologia empregada para a realização das genotipagens foi a técnica de PCR em tempo real através da detecção de SNPs utilizando sondas TaqMan®. Para a realização dessa técnica foi utilizado o aparelho QuantStudio 5 Real Time PCR System (Applied Biosystems).

As reações foram preparadas em um volume final de 10 µL, utilizando 5 µL de Taqman Genotyping Master Mix (Thermofisher, Foster City, EUA), 0,25 µL de sonda Taqman na concentração de 20 vezes (Thermofisher, Foster City, EUA), 3,75 µL de H₂O ultrapura e 1 µL de DNA na concentração de 50 ng/µL. A ciclagem para os ensaios foi 95 °C por 10 minutos, seguida de 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos e 60 °C por 1 minuto. Após a reação de PCR, foi plotado os sinais de fluorescência para cada amostra e assim discriminando os alelos presentes, conforme recomendações do fabricante (Life Technologies, Califórnia, USA).

4.6 DOSAGEM DE sP-SELECTINA

Dos 327 pacientes incluídos no grupo total do estudo, 75 foram selecionados para a dosagem da P-selectina e foram divididos em três grupos:

- 1 Grupo CVO: Composto por 17 pacientes com idade maior que 18 anos e que apresentaram relatos de crise vaso-oclusiva. Os pacientes foram coletados no momento do internamento por crise álgica característica, previamente à analgesia.
- 2 Grupo Osteonecrose: Composto por 20 pacientes que apresentaram registro

de ressonância magnética e/ou exame de raio-X mostrando lesão óssea e que apresentaram evidentes manifestações e queixas clínicas decorrentes da osteonecrose, relatados no prontuário;

- 3 Grupo Controle: Composto por 38 pacientes com idade maior que 18 anos em estado estável, sem que apresentassem eventos agudos clínicos por pelo menos 3 meses anteriores à coleta.

As amostras de sangue total dos pacientes foram coletadas em tubos à vácuo sem anticoagulante, sendo centrifugadas a 1600 rpm por 15 minutos para separação do soro, posteriormente armazenado a -80°C até o momento de sua utilização. Para a dosagem da P-selectina solúvel foi utilizado kit comercial de ELISA (P-Selectin (Soluble) (CD62) Human ELISA Kit Invitrogen), seguindo recomendações do fabricante.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As características clínico-laboratoriais dos indivíduos foram apresentadas de forma descritiva. As frequências genotípicas e alélicas foram calculadas por contagem direta. Para verificar se as frequências estavam de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg foi utilizado o teste de distribuição de χ^2 . O teste χ^2 ou teste exato de Fisher's (quando aplicável) foi utilizado para comparações entre variáveis categóricas, enquanto os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney foram utilizados para comparações entre as variáveis contínuas.

O risco para o desenvolvimento das complicações foi avaliado a partir da análise das datas de desenvolvimento das complicações, em relação à data de nascimento. Curvas de incidência cumulativa foram construídas refletindo o tempo para o desenvolvimento das complicações com o teste de log-rank utilizado para a comparação das curvas. Todos os valores de p foram ajustados para os dois lados com nível de significância a 0,05. As análises foram realizadas utilizando o software SPSS Statistics 19.0 (IBM corporation) e GraphPad Prism (version 6.0).

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA COORTE

Dos 327 pacientes selecionados, 149 (45,8%) apresentaram < 3 CVO, 121 (37,2%) entre 3 – 5, e 55 (16,9%) > 6 CVO em 12 meses, 72 (22,3%) indivíduos apresentaram STA e 84 (26,0%) osteonecrose. Os parâmetros laboratoriais e clínicos estão descritos nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Parâmetros laboratoriais da população geral.

Variável laboratorial	Mediana	Intervalo
Hb F (%)	7,4	0,8 – 28
Contagem de hemácias ($\times 10^{12}$ células/ μ L)	2,55	1,50 – 4,56
Hemoglobina (g/dL)	7,8	4 – 11,60
Hematócrito (%)	23,7	14,8 – 35,1
Volume corpuscular médio (fL)	92,9	61,8 – 121,7
Hemoglobina corpuscular média (g/dL)	31,2	19,2 – 40,9
Contagem de leucócitos ($\times 10^6$ /L)	11,5	2,71 – 30,6
Contagem de plaquetas ($\times 10^9$ /L)	411	101 – 943
Contagem de reticulócitos (%)	9,0	0,20 – 32
Lactato desidrogenase (U/L)	758	192 – 3692
Bilirrubina total (mg/dL)	2,71	0,25 – 15,49
Bilirrubina indireta (mg/dL)	2,08	0,13 – 14,94

Fonte: A autora (2024).

Tabela 2: Caracterização clínica dos pacientes incluídos no estudo.

Características dos indivíduos	n (%) (n total = 327)
<u>Sexo</u>	
Feminino	184 (56,3%)
Masculino	143 (43,7%)
<u>Idade</u>	
Intervalo (anos)	18 – 63
Mediana (anos)	34
<u>Crises vaso-oclusivas ao ano</u>	
< 3	149 (45,8%)
3 - 5	121 (37,2%)
> 6	55 (16,9%)
<u>Síndrome torácica aguda</u>	
Sim	70 (24%)
Não	219 (75%)
<u>Osteonecrose</u>	
Sim	84 (26,0%)
Não	239 (74,0%)

Fonte: A autora (2024).

5.2 GENOTIPAGEM DOS SNPS DO GENE *SELP*

A genotipagem para os SNPs rs6131, rs6133 e rs1800805 foi realizada em um total de 324, 323 e 316 pacientes, respectivamente. A distribuição genotípica dos SNPs apresentou-se dentro do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$). Na tabela 3 podem ser observadas as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos estudados.

Tabela 3: Frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene *SELP*.

Gene <i>SELP</i> SNP	Genótipos	Frequência genotípica (n e %)	Alelos	Frequência alélica (%)
rs6131	GG	189 (58,3%)	G	0,77
	GA	117 (36,1%)		
	AA	18 (5,6%)	A	0,23
rs6133	GG	126 (39,0%)	G	0,62
	GT	144 (44,6%)		
	TT	53 (16,4%)	T	0,38
rs1800805	GG	189 (59,8%)	G	0,76
	GA	106 (33,5%)		
	AA	21 (6,6%)	A	0,24

Fonte: A autora (2024).

5.3 ASSOCIAÇÃO DOS SNPS DO GENE *SELP* COM VARIÁVEIS CLÍNICO-LABORATORIAIS

Para as análises de associação foram aplicados os modelos recessivo, dominante, codominante e sobredominante. Como pode ser observado nas Tabelas 4 e 6, independente do modelo genético empregado, não observamos associação entre os polimorfismos rs6131 e rs1800805 com as complicações clínicas dos pacientes com AF ($P > 0,05$). Foi possível observar que houve associação, do rs6133 no modelo codominante com STA (Tabela 5).

Tabela 4: Análise de associação do polimorfismo rs6131 do gene *SELP*, com as variáveis clínico laboratoriais de pacientes com anemia falciforme de acordo com o modelo codominante.

Características clínicas e laboratoriais	Todos os pacientes N = 324	Homozigoto GG Total: 189 N(%)	Heterozigoto GA Total: 117 N (%)	Homozigoto AA Total: 18 N (%)	P-valor
Hb F (%) mediana	7,40	7,20	7,40	5,80	0,537
Intervalo	0,80 – 28,00	0,80 – 26,0	1,00 – 21,40	1,50 – 28,00	
RBC (x10 ¹² /μL), mediana	2,55	2,50	2,59	2,59	0,385
Intervalo	1,50 – 4,56	1,50 – 4,56	1,68 – 4,43	1,50 – 3,11	
Hb (g/dL), mediana	7,8	7,80	8,00	7,95	0,208
Intervalo	4,2 – 11,6	4,2 – 11,1	5,2 – 11,6	4,9 – 9,8	
Ht (%), mediana	23,7	23,50	24,10	24,2	0,475
Intervalo	14,8 – 35,0	14,8 – 35	16,3 – 34,0	14,8 – 28,8	
VCM (fL), mediana	92,9	93,3	92,5	93,4	0,803
Intervalo	61,8 – 121,7	61,8 – 121,7	66,8 – 115,3	77,6 – 108,7	
HCM (g/dL), mediana	31,2	31,3	30,8	31,9	0,634
Intervalo	19,2 – 40,9	19,2 – 40,9	21,3 – 37,5	24,6 – 35,5	
WBC (x10 ⁶ /L), mediana	11,5	11,6	11,2	12,2	0,702
Intervalo	2,7 – 30,0	4,5 – 25,9	4,7 – 30,0	2,7 – 17,8	
PLT (x10 ⁹ /L), mediana	410	410	405	440	0,802
Intervalo	101 – 943	119 – 943	101 – 758	161 – 723	
Reticulócitos (%), mediana	9,0	9,30	8,70	10,8	0,288
Intervalo	0,20 – 32,0	1,30 – 22,0	0,20 – 32,0	5,20 – 27,90	
LDH (U/L), mediana	758	814	677	574	0,037*
Intervalo	192 – 3692	192 – 3000	237 – 3692	293 – 1217	
BT (mg/dL), mediana	2,71	2,93	2,57	2,39	0,209
Intervalo	0,25 – 15,49	0,25 – 15,49	0,31 – 12,36	1,29 – 7,00	
BI (mg/dL), mediana	2,08	2,18	2,00	1,78	0,172
Intervalo	0,13 – 14,94	0,13 – 14,94	0,19 – 11,5	1,15 – 6,20	
Idade, anos, mediana	34	34	33	31	0,417
Intervalo	18 – 63	19 – 63	18 – 60	20 – 53	
Sexo					
Feminino	182 (56%)	104 (55%)	64 (55%)	14 (78%)	0,164
Masculino	142 (44%)	85 (45%)	53 (45%)	04 (22%)	
STA					
Sim	72 (22%)	38 (20%)	28 (24%)	06 (33%)	0,397
Não	248 (78%)	148 (80%)	88 (76%)	12 (67%)	
Dados indisponíveis	3	2	1	-	
Osteonecrose					
Sim	83 (26%)	51 (27,6%)	28 (24%)	04 (22%)	0,764
Não	237 (74%)	135 (72,4%)	88 (76%)	14 (78%)	
Dados indisponíveis	4	3	1	-	
CVO por ano, no último ano					
< 3	148 (46%)	81 (43%)	59 (51%)	08 (44%)	0,370
3 – 5	119 (37%)	73 (38%)	37 (32%)	09 (50%)	
> 6	55 (17%)	34 (19%)	20 (17%)	01 (06%)	
Dados indisponíveis	5	1	1	-	

HbF: Hemoglobina fetal, RBC: Hemácias, Hb: Hemoglobina, Ht: Hematócrito, VCM, Volume corpuscular médio, HCM: Hemoglobina corpuscular média, WBC: Leucócitos, PLT: Plaquetas, LDH: Lactato desidrogenase, BT: Bilirrubina total, BI: Bilirrubina indireta, STA: Síndrome torácica aguda, CVO: Crises vaso-oclusivas. *Diferença significativa (p < 0.05).

Fonte: A autora (2024).

Tabela 5: Análise de associação do polimorfismo rs6133 do gene SELP, com as variáveis clínico laboratoriais de pacientes com anemia falciforme de acordo com o modelo codominante.

Características clínicas e laboratoriais	Todos os pacientes N = 323	Homozigoto GG Total: 126 N(%)	Heterozigoto GT Total: 144 N (%)	Homozigoto TT Total: 53 N (%)	P-valor
Hb F (%) mediana	7,40	7,30	6,7	8,6	0,154
Intervalo	0,80 – 28,00	0,80 – 28,00	1,00 – 23,00	2,30 – 26,00	
RBC (x10 ¹² /μL), mediana	2,55	2,50	2,54	2,71	0,110
Intervalo	1,50 – 4,56	1,50 – 4,56	1,54 – 4,43	1,77 – 4,08	
Hb (g/dL), mediana	7,8	7,8	7,8	8,3	0,038*
Intervalo	4,2 – 11,6	4,2 – 11,5	5,1 – 11,6	5,40 – 11,1	
Ht (%), mediana	23,7	23,3	23,8	24,8	0,061
Intervalo	14,8 – 35,0	14,8 – 34	15,4 – 33,6	16,4 – 35,1	
VCM (fL), mediana	92,9	93,0	92,5	92,1	0,924
Intervalo	61,8 – 121,7	61,8 – 121,7	65 – 115,3	69,9 – 113,8	
HCM (g/dL), mediana	31,2	30,9	31,5	30,8	0,715
Intervalo	19,2 – 40,9	20,2 – 40,9	19,2 – 37,7	24,0 – 37,7	
WBC (x10 ⁶ /L), mediana	11,5	10,8	11,6	12,7	0,086
Intervalo	2,7 – 30,0	2,7 – 25,9	4,5 – 30,0	5,6 – 21,6	
PLT (x10 ⁹ /L), mediana	410	406	410	411	0,849
Intervalo	101 – 943	101 – 943	119 – 802	119 – 925	
Reticulócitos (%), mediana	9,0	9,30	9,35	8,00	0,332
Intervalo	0,20 – 32,0	0,20 – 21,10	1,30 – 21,20	2,20 – 32,0	
LDH (U/L), mediana	758	714	757	833	0,154
Intervalo	192 – 3692	223 – 3692	286 – 3153	260 – 2233	
BT (mg/dL), mediana	2,71	2,51	2,90	2,52	0,128
Intervalo	0,25 – 15,49	0,31 – 15,49	0,25 – 12,36	0,25 – 8,15	
BI (mg/dL), mediana	2,08	2,00	2,23	2,00	0,392
Intervalo	0,13 – 14,94	0,19 – 14,94	0,13 – 11,5	0,17 – 1,38	
Idade, anos, mediana	34	33	35	33	0,424
Intervalo	18 – 63	19 – 61	18 – 63	19 – 58	
Sexo					
Feminino	182 (56%)	74 (59%)	78 (54%)	29 (55%)	0,736
Masculino	142 (44%)	52 (41%)	66 (46%)	24 (45%)	
STA					
Sim	72 (22%)	22 (18%)	42 (30%)	08 (15%)	0,025*
Não	248 (78%)	102 (82%)	100 (70%)	45 (85%)	
Dados indisponíveis	3	1	1	-	
Osteonecrose					
Sim	83 (26%)	38 (31%)	31 (22%)	12 (23%)	0,227
Não	237 (74%)	86 (69%)	111 (78%)	41 (77%)	
Dados indisponíveis	4	2	2	-	
CVO por ano, no último ano					
< 3	148 (46%)	58 (46%)	64 (45%)	25 (47%)	0,874
3 – 5	119 (37%)	48 (38%)	55 (38%)	17 (32%)	
> 6	55 (17%)	19 (16%)	24 (17%)	11 (21%)	
Dados indisponíveis	5	1	1	-	

HbF: Hemoglobina fetal, RBC: Hemácias, Hb: Hemoglobina, Ht: Hematócrito, VCM, Volume corpuscular médio, HCM: Hemoglobina corpuscular média, WBC: Leucócitos, PLT: Plaquetas, LDH: Lactato desidrogenase, BT: Bilirrubina total, BI: Bilirrubina indireta, STA: Síndrome torácica aguda, CVO: Crises vaso-oclusivas. *Diferença significativa (p < 0.05).

Fonte: A autora (2024).

Tabela 6: Análise de associação do polimorfismo rs1800805 do gene *SELP*, com as variáveis clínico laboratoriais de pacientes com anemia falciforme de acordo com o modelo codominante.

Características clínicas e laboratoriais	Todos os pacientes N = 316	Homozigoto GG Total: 189 N (%)	Heterozigoto GA Total: 106 N (%)	Homozigoto AA Total: 21 N (%)	P-valor
Hb F (%) mediana	7,40	7,40	7,70	7,70	0,867
Intervalo	0,80 – 28,00	0,80 – 24,40	1,00 – 26,00	1,00 – 28,00	
RBC (x10 ¹² /μL), mediana	2,55	2,48	2,55	2,59	0,144
Intervalo	1,50 – 4,56	1,50 – 4,56	1,71 – 4,33	1,50 – 4,33	
Hb (g/dL), mediana	7,8	7,70	7,80	7,90	0,104
Intervalo	4,2 – 11,6	4,20 – 11,5	5,40 – 11,60	4,9 – 11,60	
Ht (%), mediana	23,7	23,50	23,8	24,1	0,159
Intervalo	14,8 – 35,0	14,8 – 34,0	16,4 – 33,6	14,8 – 35,1	
VCM (fL), mediana	92,9	93,5	92,7	92,5	0,294
Intervalo	61,8 – 121,7	61,8 – 113,8	66,6 – 118,7	62,6 – 121,7	
HCM (g/dL), mediana	31,2	31,5	30,8	30,8	0,281
Intervalo	19,2 – 40,9	20,2 – 38,0	19,2 – 39,8	19,2 – 40,9	
WBC (x10 ⁶ /L), mediana	11,5	10,9	11,7	11,7	0,181
Intervalo	2,7 – 30,0	6,5 – 21,9	4,5 – 30,0	2,7 – 30,0	
PLT (x10 ⁹ /L), mediana	410	400	404	419	0,937
Intervalo	101 – 943	179 – 775	101 – 870	101 – 925	
Reticulócitos (%), mediana	9,0	9,15	9,55	9,0	0,489
Intervalo	0,20 – 32,0	0,20 – 21,10	1,50 – 27,90	1,30 – 23,90	
LDH (U/L), mediana	758	767	717	723	0,506
Intervalo	192 – 3692	232 – 2854	223 – 3153	223 – 3153	
BT (mg/dL), mediana	2,71	2,67	2,52	2,73	0,852
Intervalo	0,25 – 15,49	0,31 – 10,14	0,68 – 8,13	0,25 – 15,49	
BI (mg/dL), mediana	2,08	2,13	2,04	2,06	0,856
Intervalo	0,13 – 14,94	0,19 – 9,60	0,42 – 7,00	0,13 – 14,94	
Idade, anos, mediana	34	36	33	33	0,352
Intervalo	18 – 63	18 – 63	18 – 58	18 – 61	
Sexo					
Feminino	182 (56%)	100 (53%)	64 (60%)	13 (62%)	0,396
Masculino	142 (44%)	89 (47%)	42 (40%)	08 (38%)	
STA					
Sim	72 (22%)	44 (23%)	23 (22%)	03 (14%)	0,626
Não	248 (78%)	143 (77%)	81 (78%)	18 (86%)	
Dados indisponíveis	3	1	1		
Osteonecrose					
Sim	83 (26%)	43 (23%)	30 (29%)	06 (29%)	0,513
Não	237 (74%)	144 (77%)	74 (71%)	15 (71%)	
Dados indisponíveis	4	2	1		
CVO por ano, no último ano					
< 3	148 (46%)	84 (45%)	53 (50%)	08 (38%)	0,803
3 – 5	119 (37%)	71 (38%)	37 (35%)	09 (43%)	
> 6	55 (17%)	33 (17%)	15 (15%)	04 (19%)	
Dados indisponíveis	5	1	1		

HbF: Hemoglobina fetal, RBC: Hemácias, Hb: Hemoglobina, Ht: Hematócrito, VCM, Volume corpuscular médio, HCM: Hemoglobina corpuscular média, WBC: Leucócitos, PLT: Plaquetas, LDH: Lactato desidrogenase, BT: Bilirrubina total, BI: Bilirrubina indireta, STA: Síndrome torácica aguda, CVO: Crises vaso-oclusivas.*Diferença estatisticamente significativa (p < 0.05).

Fonte: A autora (2024).

Para o polimorfismo rs6131, com relação aos dados laboratoriais, foi observado que para indivíduos com genótipo homozigoto GG apresentavam maiores níveis de LDH (814 U/L, 192 – 3000 U/L), quando comparado aos genótipos GA (677 U/L, 237 – 3692 U/L) e AA (574 U/L, 293 – 1217 U/L) ($P = 0,037$) (Tabela 4).

Para o polimorfismo rs6133 ao aplicar o modelo de associação codominante, observamos que indivíduos com genótipo homozigoto selvagem GG apresentavam menor frequência de síndrome torácica aguda, seguido dos pacientes com genótipo variante TT e genótipo heterozigoto GT com maior frequência da complicação ($P = 0,025$). Com relação aos dados laboratoriais foi observado que indivíduos com genótipo homozigoto TT apresentavam maiores níveis de hemoglobina (8,3 g/dL, 5,40 – 11,1 g/dL) quando comparado aos genótipos GT (7,8 g/dL, 5,1 – 11,6 g/dL), e GG (7,8 g/dL, 4,2 – 11,5 g/dL) ($P = 0,038$) (Tabela 5).

Com relação a análise alélica, não foi observada associação dos alelos dos SNPs rs6131, rs6133 e rs1800805 com a ocorrência de síndrome torácica aguda, osteonecrose e número de crises vaso-oclusivas ao ano ($P > 0,05$) (Tabela 7).

Tabela 7: Análise de associação dos alelos dos SNPs rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene *SELP* com variáveis clínicas de pacientes com AF.

Variáveis clínicas		Alelos		OR (IC 95%)	P-valor
rs6131					
		G	A		
CVO	<3	221 (75%)	75 (25%)		0,517
	3 – 5	183 (77%)	55 (23%)		
	>6	88 (80%)	22 (20%)		
STA	Sim	104 (72%)	40 (28%)	1 (ref). 0,75	0,221
	Não	384 (77%)	112 (23%)	(0,49 – 1,14)	
NACF	Sim	130 (78%)	36 (22%)	1 (ref). 1,17	0,525
	Não	358 (75%)	116 (25%)	(0,76 – 1,79)	
rs6133					
		G	T		
CVO	<3	180 (61%)	114 (39%)		0,621
	3 – 5	151 (63%)	89 (37%)		
	>6	62 (57%)	46 (43%)		
STA	Sim	86 (60%)	58 (40%)	1 (ref). 0,92	0,698
	Não	304 (61%)	190 (39%)	(0,62 – 1,36)	
NACF	Sim	107 (66%)	55 (34%)	1 (ref). 1,32	0,161
	Não	283 (59%)	193 (41%)	(0,91 – 1,93)	
rs1800805					
		G	A		
CVO	<3	221 (76%)	69 (24%)		0,940
	3 – 5	179 (77%)	55 (23%)		

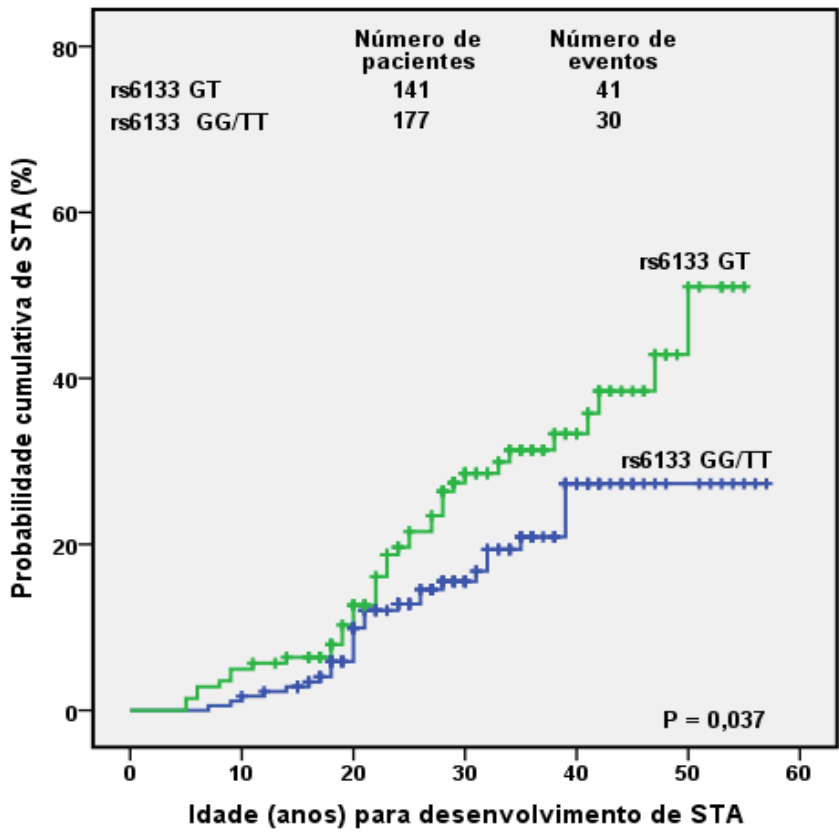
	>6	81(78%)	23 (22%)		
STA	Sim	111 (79%)	29 (21%)	1 (ref). 1,20	0,429
	Não	367 (76%)	117 (24%)	(0,77 – 1,91)	
NACF	Sim	116 (73%)	42 (24%)	1 (ref). 0,79	0,278
	Não	362 (78%)	104 (22%)	(0,52 – 1,21)	

CVO: Crises vaso-oclusivas no último ano; STA: Síndrome torácica aguda; NACF: Necrose asséptica de cabeça de fêmur ou osteonecrose; OR: Odds Ratio e IC: Intervalo de confiança.

Fonte: A autora (2024).

O impacto do polimorfismo rs6133 no modelo sobredominante (heterozigoto, GT versus homozigoto variante, TT e homozigoto selvagem, GG) foi avaliado com relação ao tempo de desenvolvimento da STA (Figura 9).

Figura 9: Probabilidade cumulativa para desenvolvimento de STA em pacientes com AF de acordo com os genótipos para o polimorfismo SELP rs6133.



Fonte: A autora (2024).

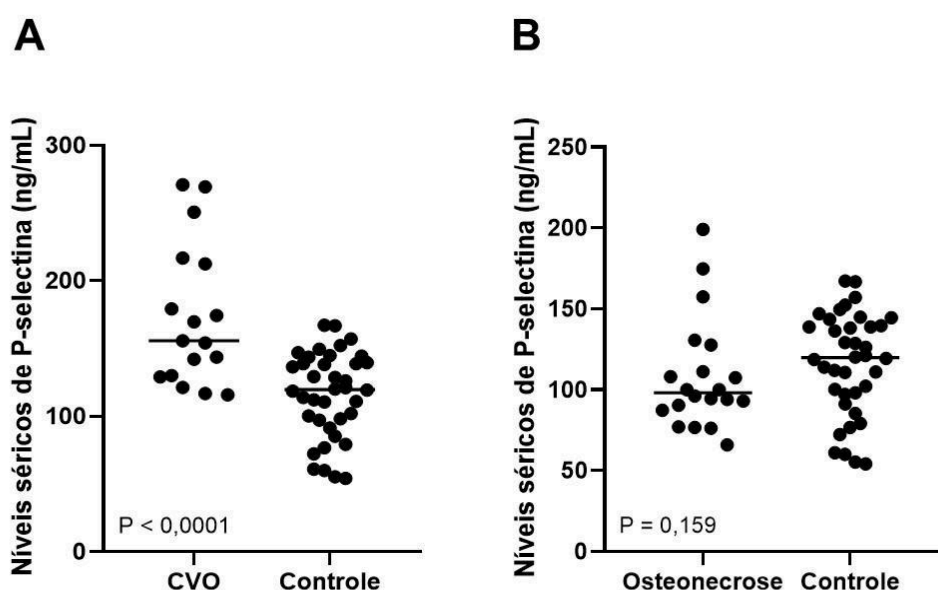
A idade mediana para o desenvolvimento da STA foi de 22 anos (intervalo: 05 a 50 anos). A média de seguimento para desenvolvimento da STA foi de 46 anos (IC95%: 43 a 48 anos). Os pacientes heterozigotos GT apresentaram um seguimento médio de 42 anos (IC95%: 39 a 45) enquanto os homozigotos selvagem

(GG) e homozigotos variante (TT) apresentaram seguimento médio de 48 anos (IC95%: 46 a 51). As taxas de desenvolvimento de STA foram de 51% para o genótipo GT, e 27% para os genótipos GG e TT ($P = 0,037$) (Figura 7). Os polimorfismos rs6131 e rs1800805 não se mostraram associados com a incidência cumulativa de nenhuma das complicações clínicas ($P > 0,05$).

5.4 NÍVEIS SÉRICOS DE SP-SELECTINA DE ACORDO COM AS COMPLICAÇÕES CLÍNICAS DA AF E VARIANTES DE *SELP*

A dosagem da sP-selectina sérica foi realizada em 75 pacientes dos 327 estudados. A mediana total dos níveis de sP-selectina foi de 121,10 ng/mL (intervalo, 54,13 – 270,95 ng/mL). Destes indivíduos 17 eram pacientes com AF durante episódio de CVO, 20 tiveram osteonecrose e 38 eram pacientes controle. Foi observado que os indivíduos do grupo CVO possuíam maiores níveis de sP-selectina (mediana: 155,7 ng/mL, intervalo: 115,9 ng/mL – 271,0 ng/mL), quando comparado ao grupo controle (mediana: 119,8 ng/mL, intervalo: 54,13 ng/mL – 167,3 ng/mL) ($P < 0,0001$). Com relação a osteonecrose (mediana: 98,09 ng/mL, intervalo: 65,90 ng/mL – 199,1 ng/mL), não foi observada diferença dos níveis de sP-selectina quando comparado ao grupo controle (Figura 10) ($P = 0,159$).

Figura 10: Avaliação dos níveis de sP-selectina sérica de acordo com a ocorrência de crises vaso-oclusivas (CVO) e osteonecrose em pacientes com AF. A) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF em crise vaso-oclusiva (CVO) e controles. B) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF de acordo com a ocorrência de osteonecrose e controles.

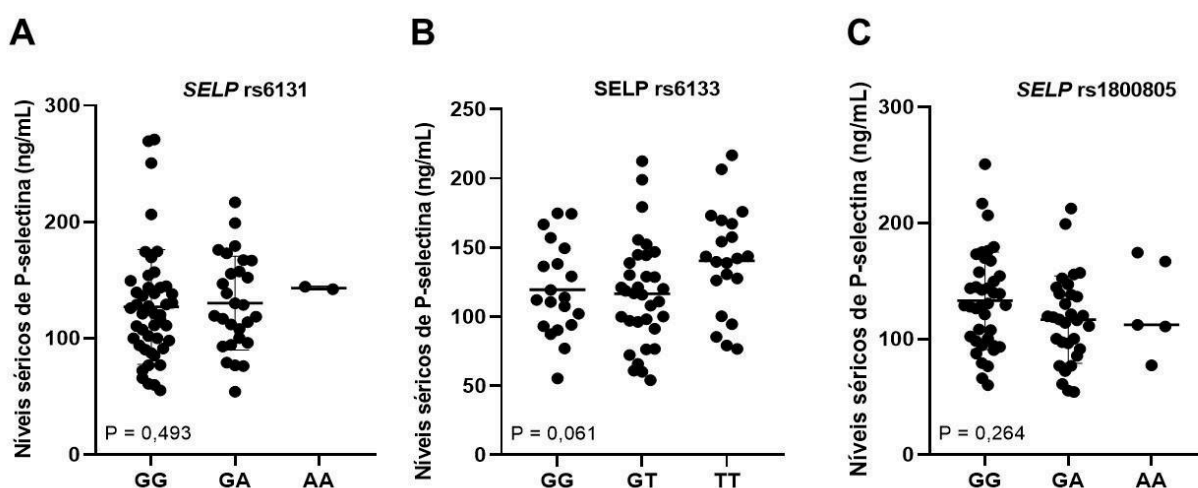


Fonte: A autora (2024).

Ao analisar os níveis de sP-selectina de acordo com genótipos dos polimorfismos de *SELP* no grupo total, não foi observada diferença estatística para nenhuma variante. Para o polimorfismo rs6131 a mediana da sP-selectina de acordo com os genótipos foi: GG (mediana: 121,2 ng/mL, intervalo: 55,35 ng/mL – 271,0 ng/mL), GA (mediana: 124,1 ng/mL, intervalo: 54,13 ng/mL – 216,8 ng/mL) e AA (mediana: 143,4 ng/mL, intervalo: 142,2 ng/mL – 144,5 ng/mL) ($P = 0,493$) (Figura 11A).

Para o polimorfismo rs6133 a mediana da sP-selectina de acordo com os genótipos foi: GG (mediana: 113,0 ng/mL, intervalo: 55,35 ng/mL – 174,8 ng/mL), GT (mediana: 116,8 ng/mL, intervalo: 54,13 ng/mL – 212,5 ng/mL) e TT (mediana: 142,2 ng/mL, intervalo: 76,76 ng/mL – 216,8 ng/mL) ($P = 0,061$) (Figura 11B). Por fim, para o polimorfismo rs1800805 a mediana da sP-selectina de acordo com os genótipos foi: GG (mediana: 129,2 ng/mL, intervalo: 60,09 ng/mL – 250,8 ng/mL), GA (mediana: 116,8 ng/mL, intervalo: 54,13 ng/mL – 212,5 ng/mL) e TT (mediana: 112,1 ng/mL, intervalo: 76,06 ng/mL – 174,5 ng/mL) ($P = 0,264$) (Figura 11C).

Figura 11: Avaliação dos níveis de sP-selectina sérica de acordo com os polimorfismos rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene *SELP*. A) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF de acordo com os três genótipos para o polimorfismo rs6131; B) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF de acordo com os três genótipos possíveis para o polimorfismo rs6133; C) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF de acordo com os três genótipos possíveis para o polimorfismo rs1800805.

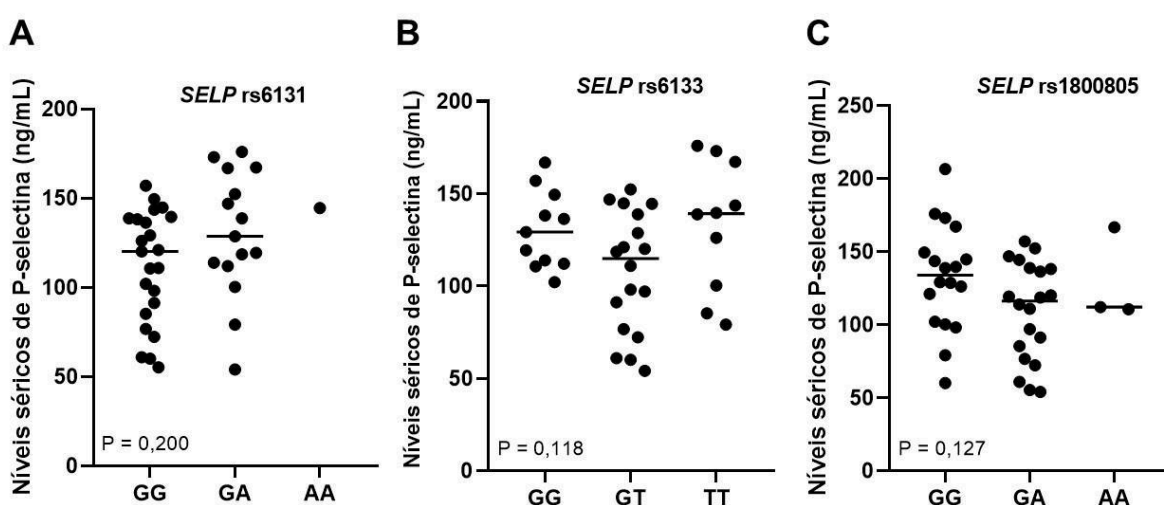


Fonte: A autora (2024).

Os níveis de sP-selectina também foram avaliados de acordo com os polimorfismos separando os grupos de cada condição estudada. Dessa forma, ao

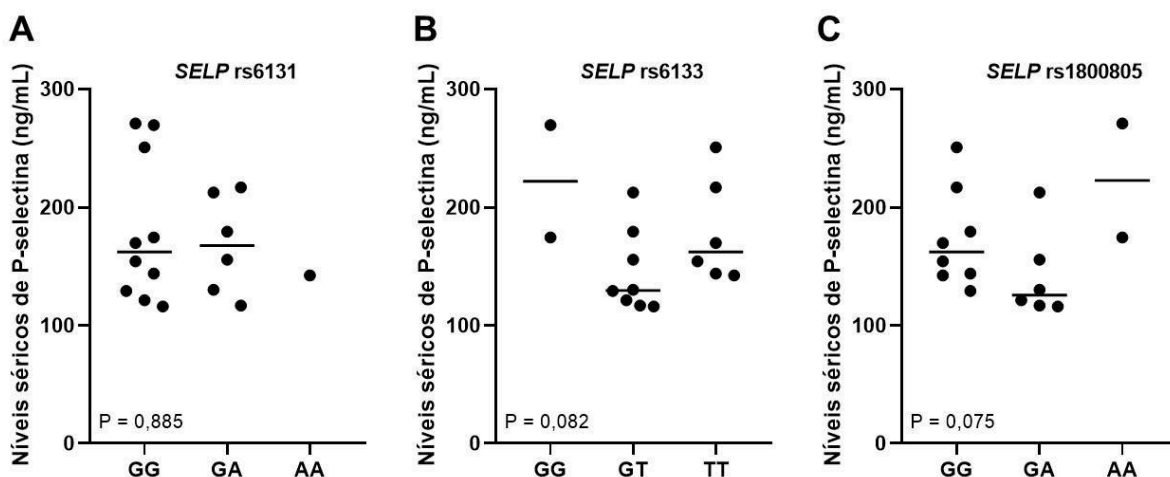
analisar os níveis de sP-selectina para cada genótipo dos polimorfismos *SELP* em apenas pacientes do grupo controle (Figura 12), apenas pacientes do grupo CVO (Figura 13) e apenas pacientes do grupo osteonecrose (Figura 14), não foi observada nenhuma diferença estatística.

Figura 12: Avaliação dos níveis de sP-selectina sérica de acordo com os polimorfismos rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene *SELP* em pacientes controle com AF. A) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF controle de acordo com os três genótipos para o polimorfismo rs6131. B) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF controle de acordo com os três genótipos possíveis para o polimorfismo rs6133. C) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes controle com AF de acordo com os três genótipos possíveis para o polimorfismo rs1800805.



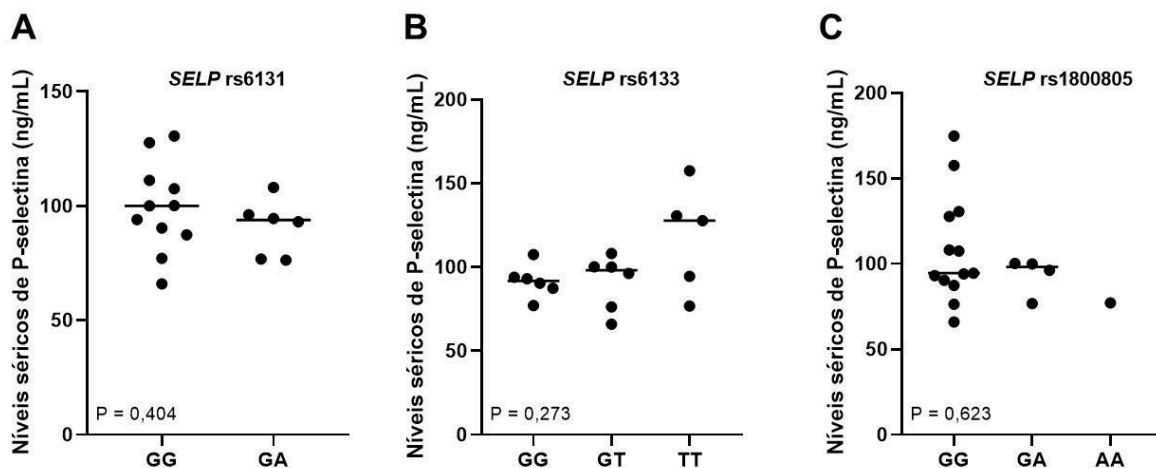
Fonte: A autora (2024).

Figura 13: Avaliação dos níveis de sP-selectina sérica de acordo com os polimorfismos rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene *SELP* em pacientes com AF durante episódio de crise vaso-oclusiva (CVO). A) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF durante episódio de CVO de acordo com os três genótipos para o polimorfismo rs6131. B) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF durante episódio de CVO de acordo com os três genótipos possíveis para o polimorfismo rs6133. C) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes durante episódio de CVO com AF de acordo com os três genótipos possíveis para o polimorfismo rs1800805.



Fonte: A autora (2024).

Figura 14: Avaliação dos níveis de sP-selectina sérica de acordo com os polimorfismos rs6131, rs6133 e rs1800805 do gene SELP em pacientes com AF e osteonecrose. . A) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF durante episódio de CVO de acordo com os três genótipos para o polimorfismo rs6131. B) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes com AF e osteonecrose de acordo com os três genótipos possíveis para o polimorfismo rs6133. C) Níveis de sP-selectina sérica em pacientes e osteonecrose com AF de acordo com os três genótipos possíveis para o polimorfismo rs1800805.



Fonte: A autora (2024).

6 DISCUSSÃO

Polimorfismos no gene *SELP* foram previamente associados com a ocorrência de doenças trombóticas, cardiovasculares, ateroscleróticas e inflamatórias como lúpus e diabetes mellitus (BARBAUX *et al.*, 2001; HERRERA-MAYA *et al.*, 2020; KOU *et al.*, 2017; MA *et al.*, 2020; MORRIS *et al.*, 2009). Os polimorfismos funcionais *SELP* -1969G/A (rs1800805), G1057A Ser290Asn (rs6131) e G1980T Leu599Val (rs6133) foram relacionados com a ocorrência de desfechos diversos. Além disso, evidências apontam relação dos SNPs em *SELP* com os níveis da sP-selectina (BARBAUX *et al.*, 2001; HERRERA-MAYA *et al.*, 2020; REINER *et al.*, 2008).

Apesar de extensivamente estudados no contexto de outras doenças, esta relação ainda é pouco explorada na AF. Neste estudo observamos associação do polimorfismo *SELP* rs6133 com a ocorrência de síndrome torácica aguda em pacientes com AF atendidos na Fundação HEMOPE.

A P-selectina é uma proteína expressa em plaquetas ativadas e células endoteliais e promove a adesão de plaquetas com neutrófilos, por meio da ligação com seu ligante, o PSGL-1, além de contribuir para adesão de hemácias falcizadas e a agregação local de trombos (TVAROŠKA *et al.*, 2020). Dessa forma, a regulação da P-selectina está intimamente relacionada a episódios trombóticos, coagulação sanguínea, vaso-oclusão e fibrinólise, e pode ser um importante modulador de risco nas complicações da AF (LI *et al.*, 2015).

Neste estudo, o polimorfismo *missense SELP* G1057A Ser290Asn rs6131 não se mostrou associado com nenhuma das variáveis clínicas estudadas. Evidências apontam que o SNP rs6131 tem implicações funcionais, podendo afetar a transcrição do gene *SELP* e a expressão do nível de P-selectina, ou influenciar na ligação a ligantes por meio de alterações conformacionais, resultando em uma proteína mais eficiente no recrutamento de leucócitos para o endotélio (HERRERA-MAYA *et al.*, 2020; TAO *et al.*, 2016; TIMASHEVA *et al.*, 2015).

Em um estudo com pacientes sem AF e com AVC isquêmico, as frequências alélicas e genótípicas do *SELP* rs6131 não foram significativamente diferentes entre o grupo caso e o grupo controle, bem como entre os subgrupos do grupo caso (pacientes com AVC de ateroesclerótico de grandes artérias, pacientes com cardioembolismo (CE) e pacientes com AVC de oclusão de pequenas artérias) e o grupo controle (TAO *et al.*, 2016).

Por outro lado, o *SELP* rs6131 foi extensamente estudado no contexto de complicações cardiovasculares. No estudo CARDIA (do inglês, *The Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study*), o rs6131 mostrou-se associado com a espessura da camada média-intimal da carótida em adultos jovens e com níveis plasmáticos diminuídos de sP-selectina (REINER *et al.*, 2008). Em concordância, em uma população mexicana o alelo 290Asn (A), do polimorfismo rs6131 foi associado a um menor risco de desenvolvimento de síndrome coronariana aguda, além de ter sido associado com menores níveis de sP-selectina (HERRERA-MAYA *et al.*, 2020).

Em contraste, em outro estudo, o alelo 290Asn (A), estava associado ao desenvolvimento de hipertensão em uma população da Rússia) (TIMASHEVA *et al.*, 2015). No nosso estudo não foi possível avaliar a associação dos polimorfismos de *SELP* com complicações cardíacas na AF, visto que as informações nos prontuários sobre esse desfecho eram escassas e limitadas a alguns poucos pacientes, uma vez que no HEMOPE, não há rotina para este acompanhamento.

Para o polimorfismo *SELP* G1980T Val599Leu (rs6133), observamos que indivíduos com genótipo homozigoto GG apresentavam menor frequência de STA, seguido dos pacientes com genótipo TT e genótipo heterozigoto GT com maior frequência da complicação. Além disso, pacientes com genótipo GT apresentaram uma maior taxa de desenvolvimento de STA em menor tempo quando comparado aos genótipos TT e GG.

A STA é definida como a presença de um novo infiltrado pulmonar visualizado no raio-X de tórax, associado com dor torácica, hipoxemia, taquipneia ou febre (KAVANAGH *et al.*, 2022). Além disso, a STA pode surgir em decorrência crises vaso-oclusivas agudas (NOVELLI; GLADWIN, 2016). Estudos mostram que a P-selectina está relacionada com a inflamação induzida pelo grupo heme livre, favorecendo o dano pulmonar agudo na AF (GHOSH *et al.*,

2019). Dados com camundongos Hb SS mostraram que a P-selectina estava constitutivamente mais expressa nos pulmões destes quando comparado a animais sem Hb SS, sugerindo papel desta molécula em complicações pulmonares como a STA (WOOD *et al.*, 2004). Além disso, camundongos Hb SS com deleção para o gene *SELP*, mostraram ausência do mRNA e proteína da P-selectina em tecidos hematopoiéticos e não hematopoiéticos, levando à atenuação da vaso-oclusão e lesão no pulmão e no fígado (BENNEWITZ *et al.*, 2020).

Até o momento este é o primeiro trabalho a investigar a associação de polimorfismos em *SELP* com a ocorrência de STA na AF. Polimorfismos em *SELP* foram avaliados em pacientes com cardiopatia congênita, onde o SNP de região promotora *SELP* -825T/C esteve associado com a ocorrência de hipertensão pulmonar nesses pacientes (LI *et al.*, 2015). Além disso, o alelo 599Leu (T) do *SELP* rs6133 mostrou-se associado com o risco de AVC em uma população sem AF (ZEE *et al.*, 2004).

O *SELP* rs6133 é um polimorfismo não sinônimo que leva à substituição de uma valina por leucina no aminoácido 599 e localiza-se na oitava repetição consenso da P-selectina. Dada a sua localização próximo ao domínio transmembranar é provável que este SNP possa influenciar ligação da P-selectina ao seu ligante nos leucócitos através da modificação conformacional (MARTEAU *et al.*, 2008). Níveis diminuídos de sP-selectina foram relacionados com o alelo 599Leu (T) do rs6133 (MARTEAU *et al.*, 2008; REINER *et al.*, 2008). Considerando o papel relevante do P-selectina no dano pulmonar na AF, é provável que o polimorfismo rs6133 possa contribuir para os eventos vaso-oclusivos e a STA.

Por fim, para o polimorfismo *SELP* -1969 G/A rs1800805 não foi observada diferença estatística entre os alelos e genótipos e a ocorrência das complicações clínicas da doença. O polimorfismo rs1800805 localiza-se na região promotora do gene *SELP* e parece ser funcional por meio da alteração na expressão gênica. O genótipo AA deste polimorfismo mostrou-se associado com maiores níveis séricos de sP-selectina em pacientes com doença coronariana (BARBAUX *et al.*, 2001). Ao ser associado em haplótipo com outros SNPs de *SELP* (rs1800805/rs1800807/ rs6127), foi observada associação com o risco de aborto espontâneo (DENDANA *et al.*, 2012).

Alguns estudos avaliando a associação de polimorfismos em *SELP*, mostraram que a análise de haplótipos pode fornecer informações mais completas nas análises de associação. Quando analisados individualmente, os SNPs do gene *SELP* rs6131, rs6127, rs6136 e rs1800807 não mostraram associação com o risco de tromboembolismo venoso. Entretanto, quando avaliadas as combinações haplotípicas, foi observada associação com o desfecho clínico e com os níveis de sP-selectina (AY *et al.*, 2008). Assim, a análise de haplótipos é capaz de identificar efeitos genéticos potencialmente relevantes, que não são detectados por uma análise baseada em um único polimorfismo.

De forma similar, em outro estudo, os genótipos do SNP rs6131 analisados individualmente não foram associados com o risco de hipertensão, contudo, quando combinado em haplótipos com SNPs nos genes *SELE*, *VEGFA*, *IL1B* e *IL12B*, o alelo 290Asn (A), esteve associado com o risco aumentado de hipertensão (TIMASHEVA *et al.*, 2015).

Outros estudos também mostraram associação de haplótipos de polimorfismos em *SELP* com outros desfechos clínicos como infarto do miocárdio, lúpus eritematoso sistêmico e risco aterosclerótico (HERRMANN *et al.*, 1998; MORRIS *et al.*, 2009; REINER *et al.*, 2008; TREGOUET *et al.*, 2002). Esses achados ilustram que existe uma complexidade na relação entre a variabilidade genética e os desfechos clínicos, além de destacar a necessidade de explorar de forma mais ampla os polimorfismos de genes candidatos (TREGOUET *et al.*, 2002).

Levando em consideração a importância da P-selectina na fisiopatologia da AF e as associações prévias dos polimorfismos de *SELP* com os níveis dessa molécula, nós avaliamos os níveis séricos sP-selectina em uma parcela dos pacientes da nossa população. Foi observado que pacientes com AF durante episódios de crise vaso-oclusiva possuem maiores níveis de sP-selectina quando comparado a indivíduos com AF controle em estado basal. Similar aos nossos resultados, maiores níveis séricos de sP-selectina foram observados em pacientes com AF durante CVO, quando comparado a controles HbSS e doadores saudáveis (Hb AA), em populações da Nigéria e Arábia Saudita (AL NAJJAR *et al.*, 2017; AWWALU *et al.*, 2020).

A crise vaso-oclusiva é um evento complexo que envolve a interação de diversos componentes celulares e moléculas. A interação dos eritrócitos falcizados

com o endotélio induz a ativação da expressão de vários genes de moléculas de adesão como a molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1), molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), a E-selectina e a P-selectina na superfície endotelial (CONRAN; EMBURY, 2021). A P-selectina é uma importante molécula para desencadeamento da vaso-oclusão, pois medeia o rolamento e adesão dos leucócitos e hemácias falcizadas à superfície do vaso, além de favorecer a formação de agregados entre as plaquetas e os neutrófilos (KUTLAR; EMBURY, 2014; ZHANG *et al.*, 2016). A importância da P-selectina para o processo vaso-oclusivo foi também demonstrada pela eficácia do crizanlizumabe, um anticorpo monoclonal anti-P-selectina, na redução das taxas de crise vaso-oclusiva em pacientes com AF (KUTLAR *et al.*, 2019).

Modificações nos níveis de sP-selectina tem sido amplamente associadas com a influência de variantes genéticas no gene *SELP* (BARBAUX *et al.*, 2001; HERRERA-MAYA *et al.*, 2020; REINER *et al.*, 2008). Apesar disso, no nosso estudo, os polimorfismos G1057A Ser290Asn (rs6131), G1980T Val599Leu (rs6133) e -1969 G/A (rs1800805) do gene *SELP* não se mostraram associados com os níveis de sP-selectina na população estudada. No entanto, ressaltamos que esta conclusão foi baseada em um pequeno tamanho amostral, em que alguns genótipos das variantes, especialmente o rs6131 e rs1800805, não foram significativamente prevalentes entre os pacientes, dificultando as análises de associação. Além disso não foi possível avaliar aqui, os níveis de P-selectina em pacientes com STA. Assim, novos estudos avaliando os níveis de sP-selectina na AF, podem auxiliar na compreensão do papel do *SELP* rs6133 na ocorrência de STA em pacientes com AF.

Por fim, considerando o papel relevante da P-selectina na fisiopatologia da AF, o gene *SELP* figura como um importante marcador molecular dos desfechos clínicos da doença. Neste trabalho, demonstramos pela primeira vez a associação do SNP de *SELP* rs6133 com a ocorrência de STA em pacientes com AF. Essa associação ilustra a necessidade de investigações futuras avaliando a associação dos polimorfismos de *SELP* em haplótipos e a relação do rs6133 com os níveis de sP-selectina, a fim de melhor compreender seu papel na fisiopatologia da STA.

7 CONCLUSÕES

- 1 As frequências alélicas e genótípicas dos polimorfismos *G1057A* Ser290Asn (rs6131) e -1969 G/A (rs1800805) do gene *SELP* não se mostraram associadas com o número de CVOs ao ano, a ocorrência de STA e osteonecrose em pacientes com AF atendidos no HEMOPE;
- 2 O polimorfismo *G1980T* Val599Leu (rs6133) do gene *SELP* mostrou-se associado com desenvolvimento de STA e tempo para desenvolvimento da complicação em indivíduos com AF;
- 3 Indivíduos com AF em episódio de crise vaso-oclusiva possuem maiores níveis de sP-selectina quando comparado a indivíduos com AF controle em estado basal.
- 4 Os genótipos dos polimorfismos *G1057A* Ser290Asn (rs6131), *G1980T* Val599Leu (rs6133) e -1969 G/A (rs1800805) do gene *SELP* não se mostraram associados com os níveis de sP-selectina na população estudada.

REFERÊNCIAS

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

AKINGBOLA, T. S.; TAYO, B. O.; SALAKO, B.; LAYDEN, J. E.; HSU, L. L.; COOPER, R. S.; GORDEUK, V. R.; SARAF, S. L. Comparison of Patients from Nigeria and the USA Highlights Modifiable Risk Factors for Sickle Cell Anemia Complications. **National Institutes of Health**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 236–243, 2015.

AL NAJJAR, S.; ADAM, S.; AHMED, N.; QARI, M. Markers of endothelial dysfunction and leucocyte activation in Saudi and non-Saudi haplotypes of sickle cell disease. **Annals of Hematology**, [s. l.], v. 96, n. 1, p. 141–146, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00277-016-2823-7>.

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

ATAGA, K. I.; KUTLAR, A.; KANTER, J.; LILES, D.; CANCADO, R.; FRIEDRISCH, J.; GUTHRIE, T. H.; KNIGHT-MADDEN, J.; ALVAREZ, O. A.; GORDEUK, V. R.; GUALANDRO, S.; COLELLA, M. P.; SMITH, W. R.; ROLLINS, S. A.; STOCKER, J. W.; ROTHER, R. P. Crizanlizumab for the prevention of pain crises in sickle cell disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 376, n. 5, p. 429–439, 2017.

ATALAR, E.; AYTEMIR, K.; HAZNEDAROLU, I.; ÖZER, N.; ÖVÜNÇ, K.;

AKSÖYEK, S.; KES, S.; KIRAZL, E.; ÖZMEN, F. Increased plasma levels of soluble selectins in patients with unstable angina. **International Journal of Cardiology**, [s. l.], 2001.

AWWALU, S.; HASSAN, A.; MAMMAN, A.; ALHASSAN, A.; IBRAHIM, I.; KUSFA, I.; WAZIRI, A. Soluble P- and E-selectin levels as determinants of vaso-occlusive crises among sickle cell anemia patients in a tertiary hospital Northwestern Nigeria. **Iraqi Journal of Hematology**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 123, 2020.

AY, C.; JUNGBAUER, L. V.; KAIDER, A.; KODER, S.; PANZER, S.; PABINGER, I.; MANNHALTER, C. P-selectin gene haplotypes modulate soluble P-selectin concentrations and contribute to the risk of venous thromboembolism. **Thrombosis and Haemostasis**, [s. l.], v. 99, n. 5, p. 899–904, 2008.

AZAR, S.; WONG, T. E. Sickle Cell Disease: A Brief Update. **Medical Clinics of North America**, [s. l.], v. 101, n. 2, p. 375–393, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2016.09.009>.

BALLAS, S. K.; LIEFF, S.; BENJAMIN, L. J.; DAMPIER, C. D.; HEENEY, M. M.; HOPPE, C.; JOHNSON, C. S.; ROGERS, Z. R.; SMITH-WHITLEY, K.; WANG, W. C.; TELEN, M. J. **Definitions of the phenotypic manifestations of sickle cell disease**. [S. l.: s. n.], 2010.

BARBAUX, S. C.; BLANKENBERG, S.; RUPPRECHT, H. J.; FRANCOMME, C.; BICKEL, C.; HAFNER, G.; NICAUD, V.; MEYER, J.; CAMBIEN, F.; TIRET, L. Association Between P-Selectin Gene Polymorphisms Coronary Artery Disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, [s. l.], v. 21, p. 1668–1673, 2001.

BATISTA, J. V. G. F.; PEREIRA-MARTINS, D. A.; FALCÃO, D. A.; DOMINGOS, I. F.; ARCANJO, G. S.; HATZLHOFFER, B. L.; WEINHÄUSER, I.; BATISTA, T. H. C.; CARDOSO, P. R. G.; DOS ANJOS, A. C.; HAZIN, M. F.; PITTA, M. G. R.; COSTA, F. F.; ARAUJO, A. S.; LUCENA-ARAÚJO, A. R.; BEZERRA, M. A. Association of KLOTHO polymorphisms with clinical complications of sickle cell anemia. **Annals of Hematology**, [s. l.], v. 100, n. 8, p. 1921–1927, 2021.

BENNEWITZ, M. F.; TUTUNCUOGLU, E.; GUDAPATI, S.; BRZOSKA, T.; WATKINS, S. C.; MONGA, S. P.; PRADHAN-SUNDD, T.; SUNDD, P. P-selectin-deficient mice to study pathophysiology of sickle cell disease. **Blood Advances**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 266–273, 2020.

BLANN, A. D.; LIP, G. Y. H. Hypothesis: Is soluble P-selectin a new marker of platelet activation?. **Atherosclerosis**, [s. l.], 1997.

CANÇADO, R. D.; JESUS, J. A. A doença falciforme no Brasil. **Rev. bras. hematol. hemoter.**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 204–206, 2007.

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

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

DARBARI, D. S.; SHEEHAN, V. A.; BALLAS, S. K. The vaso-occlusive pain crisis in sickle cell disease: Definition, pathophysiology, and management. **European Journal of Haematology**, [s. l.], v. 105, n. 3, p. 237–246, 2020.

DAVIS, L.; DIBNER, M.; BATTEY, J. **Basic Methods in Molecular Biology**. [S. l.: s. n.] 1986.v. 1st ed.

DENDANA, M.; HIZEM, S.; MAGDDOUD, K.; MESSAOUDI, S.; ZAMMITI, W.; NOUIRA, M.; ALMAWI, W. Y.; MAHJOUB, T. Common polymorphisms in the P-selectin gene in women with recurrent spontaneous abortions. **Gene**, [s. l.], v. 495, n. 1, p. 72–75, 2012.

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

DRISS, A.; ASARE, K. O.; HIBBERT, J. M.; GEE, B. E.; ADAMKIEWICZ, T. V.; STILES, J. K. Sickle cell disease in the post genomic era: A monogenic disease with a polygenic phenotype. **Genomics Insights**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 23–48, 2009.

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

EMBURY, S. H.; MATSUI, N. M.; RAMANUJAM, S.; MAYADAS, T. N.; NOGUCHI, C. T.; DIWAN, B. A.; MOHANDAS, N.; CHEUNG, A. T. W. The contribution of endothelial cell P-selectin to the microvascular flow of mouse sickle erythrocytes in vivo. **Blood**, [s. l.], v. 104, n. 10, p. 3378–3385, 2004.

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

FITZGERALD, D. J.; ROY, L.; CATELLA, F.; FITZGERALD, G. A. Platelet Activation in Unstable Coronary Disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], 1986.

GALIZA NETO, G. C. de; PITOMBEIRA, M. da S. Aspectos moleculares da anemia falciforme. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s. l.], 2003.

GHOSH, S.; FLAGE, B.; WEIDERT, F.; OFORI-ACQUAH, S. P-selectin plays a role in haem-induced acute lung injury in sickle mice. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 186, n. 186, p. 329–333, 2019.

HATZLHOFFER, B. L. D.; PEREIRA-MARTINS, D. A.; DE FARIAS DOMINGOS, I.; ARCANJO, G. da S.; WEINHÄUSER, I.; FALCÃO, D. A.; FARIAS, I. C. C.; DE FREITAS BATISTA, J. V. G.; PRADO, L. P. L.; OLIVEIRA, J. M. F.; BATISTA, T. H. C.; SOBREIRA, M. J. de V. C.; DE SANTANA, R. M.; ARAÚJO, A. B. de S.; DE MELO, M. A.; DE ANCÂNTARA, B. V.; COELHO-SILVA, J. L.; DE MOURA RAFAEL, A. B. L.; DE LIMA SILVA, D. M.; ALBUQUERQUE, F. P.; SANTOS, M. N. N.; DOS ANJOS, A. C.; COSTA, F. F.; DA SILVA ARAÚJO, A.; LUCENA-ARAÚJO, A. R.; BEZERRA, M. A. C. Alpha thalassemia, but not β S-globin haplotypes, influence sickle cell anemia clinical outcome in a large, single-center Brazilian cohort. **Annals of Hematology**, [s. l.], v. 100, n. 4, p. 921–931, 2021.

HERRERA-MAYA, G.; VARGAS-ALARCÓN, G.; PÉREZ-MÉNDEZ, O.; POSADAS-SÁNCHEZ, R.; MASSO, F.; JUÁREZ-CEDILLO, T.; ESCOBEDO, G.; VÁZQUEZ-MONTERO, A.; FRAGOSO, J. M. The Ser290Asn and Thr715pro polymorphisms of the SELP gene are associated with a lower risk of developing acute coronary syndrome and low soluble p-selectin levels in a Mexican population. **Biomolecules**, [s. l.], v. 10, n. 2, 2020.

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

HERRMANN, S.-M.; RICARD, S.; NICAUD, V.; MALLET, C.; EVANS, A.; RUIDAVETS, J.-B.; ARVEILER, D.; LUC, G.; CAMBIEN, F. The P-selectin gene is highly polymorphic: reduced frequency of the Pro715 allele carriers in patients with myocardial infarction. **Human Molecular Genetics**, [s. l.], v. 7, n. 8, p. 1277–1284, 1998.

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

JAIN, S.; BAKSHI, N.; KRISHNAMURTI, L. Acute Chest Syndrome in Children with Sickle Cell Disease. **Pediatric, Allergy, Immunology, and Pulmonology**, [s. l.],

v. 30, n. 4, p. 191–201, 2017.

KARKI, N. R.; KUTLAR, A. P-selectin blockade in the treatment of painful vaso-occlusive crises in sickle cell disease: A spotlight on crizanlizumab. **Journal of Pain Research**, [s. l.], v. 14, p. 849–856, 2021.

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

KATO, G. J.; GLADWIN, M. T.; STEINBERG, M. H. Deconstructing sickle cell disease: Reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. **Blood Reviews**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 37–47, 2007.

KATO, G. J.; PIEL, F. B.; REID, C. D.; GASTON, M. H.; OHENE-FREMPPONG, K.; KRISHNAMURTI, L.; SMITH, W. R.; PANEPINTO, J. A.; WEATHERALL, D. J.; COSTA, F. F.; VICHINSKY, E. P. Sickle cell disease. **Nat. Rev. Dis. Primers**, [s. l.], v. 4, n. 18010, p. 1–22, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2018.10>.

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

KAUR, R.; SINGH, J.; KAPOOR, R.; KAUR, M. Putative functional non-coding polymorphisms in SELP significantly modulate sP-selectin levels, arterial stiffness and type 2 diabetes mellitus susceptibility. **BMC Endocrine Disorders**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 1–14, 2020.

KAVANAGH, P. L.; FASIPE, T. A.; WUN, T. Sickle Cell Disease: A Review. **JAMA**, [s. l.], v. 328, n. 1, p. 57–68, 2022.

KOU, L.; YANG, N.; DONG, B.; LI, Y.; YANG, J.; QIN, Q. Interaction between SELP genetic polymorphisms with inflammatory cytokine interleukin-6 (IL-6) gene variants on cardiovascular disease in Chinese Han population. **Mammalian Genome**, [s. l.], v. 28, n. 9–10, p. 436–442, 2017.

KUTLAR, A.; EMBURY, S. H. Cellular adhesion and the endothelium: P-selectin. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 323–339, 2014.

KUTLAR, A.; KANTER, J.; LILES, D. K.; ALVAREZ, O. A.; CANÇADO, R. D.; FRIEDRISCH, J. R.; KNIGHT-MADDEN, J. M.; BRUEDERLE, A.; SHI, M.; ZHU, Z.; ATAGA, K. I. Effect of crizanlizumab on pain crises in subgroups of patients with sickle cell disease: A SUSTAIN study analysis. **American Journal of Hematology**,

[s. l.], v. 94, n. 1, p. 55–61, 2019.

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

LI, X.; SONG, C.; SHENG, H.; ZHEN, D.; PAN, M.; ZHU, J. P-selectin gene polymorphism associates with pulmonary hypertension in congenital heart disease. **Int J Clin Exp Pathol**, [s. l.], v. 8, n. 6, p. 7189–7195, 2015.

LOBO, C. L. de C.; BALLAS, S. K.; DOMINGOS, A.; MOURA, P. G.; DO NASCIMENTO, E.; CARDOSO, G. Newborn Screening Program for Hemoglobinopathies in Rio de Janeiro, Brazil. **Pediatr Blood Cancer**, [s. l.], v. 61, p. 34–39, 2014.

MA, X.; JULEDEZI, H.; LIU, Z.; MUHUYATI, W.; MAERJIAEN, B.; HE, P. Correlation between P-selectin rs1800807 and rs1800808 Gene polymorphisms and plasma with atrial fibrillation complicated with soluble P-selectin concentrations in patients thromboembolism in Xinjiang, China. **Medicine**, [s. l.], v. 5, n. December 2019, 2020.

MARTEAU, J. B.; LAMBERT, D.; HERBETH, B.; MARIE, B.; DROESCH, S.; TREGOUET, D. A.; VISVIKIS-SIEST, S. P-selectin polymorphisms' influences on P-selectin serum concentrations and on their familial correlation: The STANISLAS family study. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, [s. l.], v. 6, n. 6, p. 920–927, 2008.

MERTEN, M.; THIAGARAJAN, P. **P-selectin in arterial thrombosis**. [S. l.: s. n.], 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme**. [S. l.: s. n.], 2018. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/protocolos-e-diretrizes>,.

MORRIS, D. L.; GRAHAM, R. R.; ERWIG, L. P.; GAFFNEY, P. M.; MOSER, K. L.; BEHRENS, T. W.; VYSE, T. J.; GRAHAM, D. S. C. Variation in the upstream region of P-Selectin (SELP) is a risk factor for SLE. **Genes and Immunity**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 404–413, 2009.

NOVELLI, E. M.; GLADWIN, M. T. Crises in sickle cell disease. **Chest**, [s. l.], v. 149, n. 4, p. 1082–1093, 2016.

PANICKER, S. R.; MEHTA-D'SOUZA, P.; ZHANG, N.; KLOPOCKI, A. G.; SHAO, B.; MCEVER, R. P. Circulating soluble P-selectin must dimerize to promote

inflammation and coagulation in mice. **Blood**, [s. l.], v. 130, n. 2, p. 181–191, 2017.

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

PATTERSON, G. D.; MASHEGU, H.; RUTHERFORD, J.; SEALS, S.; JOSEY, D.; KARLSON, C.; MCNAULL, M.; MAY, W.; CARROLL, C.; BARR, F. E.; MAJUMDAR, S. Recurrent Acute Chest Syndrome in Pediatric Sickle Cell Disease: Clinical Features and Risk Factors. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 51–55, 2018.

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

PIEL, F. B.; PATIL, A. P.; HOWES, R. E.; NYANGIRI, O. A.; GETHING, P. W.; WILLIAMS, T. N.; WEATHERALL, D. J.; HAY, S. I. hypothesis. **Nature Communications**, [s. l.], v. 1, n. 104, 2010.

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

PINCEZ, T.; ASHLEY-KOCH, A. E.; LETTRE, G.; TELEN, M. J. Genetic Modifiers of Sickle Cell Disease. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 1097–1124, 2022.

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

REES, D. C.; WILLIAMS, T. N.; GLADWIN, M. T. Sickle-cell disease. **The Lancet**, [s. l.], v. 376, n. 9757, p. 2018–2031, 2010. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61029-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61029-X).

REINER, A. P.; CARLSON, C. S.; THYAGARAJAN, B.; RIEDER, M. J.; POLAK, J. F.; SISCOVICK, D. S.; NICKERSON, D. A.; JACOBS, D. R.; GROSS, M. D. Soluble P-selectin, SELP polymorphisms, and atherosclerotic risk in European-American and African-American young adults the coronary artery risk

development in young adults (CARDIA) study. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [s. l.], v. 28, n. 8, p. 1549–1555, 2008.

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

SERJEANT, G. R.; VICHINSKY, E.; HERRICK, J.; MASON, V. Variability of homozygous sickle cell disease: The role of alpha and beta globin chain variation and other factors. **Blood Cells, Molecules and Diseases**, [s. l.], n. March, p. 0–1, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcmd.2017.06.004>.

SONATI, M. de F.; COSTA, F. F. The genetics of blood disorders: the hereditary hemoglobinopathies. **Jornal de Pediatria**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 40–51, 2008.

SRIVASTAVA, S.; KUMARI, B.; GARG, I.; DOGRA, V.; GHOSH, N.; SINGH, Y.; BARGOTYA, M.; BHATTAR, S.; GUPTA, U.; JAIN, S.; HUSSAIN, J.; VARSHNEY, R.; GANJU, L. Gene variants in pro-coagulant and anti-coagulant genes could be prognostic genetic markers of COVID-19 susceptibility. **Heliyon**, [s. l.], v. 8, n. 11, 2022.

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

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

SUNDD, P.; GLADWIN, M. T.; NOVELLI, E. M. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. **Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.**, [s. l.], v. 14, p. 261–90, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis->.

TAO, L.; CHANGFU, W.; LINYUN, L.; BING, M.; XIAOHUI, H. Correlations of platelet-leukocyte aggregates with P-selectin S290N and P-selectin glycoprotein ligand-1 M62I genetic polymorphisms in patients with acute ischemic stroke. **Journal of the Neurological Sciences**, [s. l.], v. 367, p. 95–100, 2016.

TENAGLIA, A. N.; BUDA, A. J.; WILKINS, R. G.; BARRON, M. K.; JEFFORDS, P. R.; VO, K.; JORDAN, M. O.; KUSNICK, B. A.; LEFER, D. J. Levels of expression

of P-selectin, E-selectin, and intercellular adhesion molecule-1 in coronary atherectomy specimens from patients with stable and unstable angina pectoris. **American Journal of Cardiology**, [s. l.], 1997.

TIMASHEVA, Y. R.; NASIBULLIN, T. R.; IMAEVA, E. B.; ERDMAN, V. V.; KRUZLIK, P.; TUKTAROVA, I. A.; NIKOLAEVA, I. E.; MUSTAFINA, O. E. Polymorphisms of inflammatory markers and risk of essential hypertension in Tatars from Russia. **Clinical and Experimental Hypertension**, [s. l.], v. 37, n. 5, p. 398–403, 2015.

TREGOUET, D.-A.; BARBAUX, S.; ESCOLANO, S.; TAHRI, N.; GOLMARD, J.-L.; TIRET, L.; OIS CAMBIEN, F. Specific haplotypes of the P-selectin gene are associated with myocardial infarction. **Human Molecular Genetics**, [s. l.], v. 11, n. 17, p. 2015–2023, 2002. Disponível em: <http://hmg.oxfordjournals.org/>.

TVAROŠKA, I.; SELVARAJ, C.; KOČA, J. Selectins-The two Dr. Jekyll and Mr. Hyde faces of adhesion molecules-A review. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 12, 2020.

VATS, R.; KAMINSKI, T. W.; JU, E.-M.; BROZSKA, T.; TUTUNCUOGLU, E.; JESÚ, J.; TEJERO, J.; NOVELLI, E. M.; SUNDD, P.; PRADHAN-SUNDD, T. P-selectin deficiency promotes liver senescence in sickle cell disease mice. **Blood**, [s. l.], v. 137, n. 19, p. 2676–2680, 2021. Disponível em: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/137/19/2676/1807255/bloodbld2020009779.pdf>.

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

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

WILLIAMS, Thomas N; THEIN, S. L. Sickle Cell Anemia and Its Phenotypes. [s. l.], 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083117->.

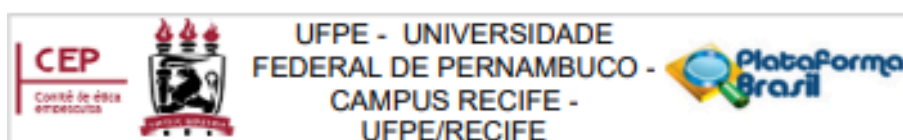
WOOD, K.; RUSSELL, J.; HEBBEL, R. P.; GRANGER, D. N. Differential expression of E- and P-selectin in the microvasculature of sickle cell transgenic mice. **Microcirculation**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 377–385, 2004.

ZEE, R. Y. L.; COOK, N. R.; CHENG, S.; REYNOLDS, R.; ERLICH, H. A.; LINDPAINTNER, K.; RIDKER, P. M. Polymorphism in the P-selectin and interleukin-4 genes as determinants of stroke: A population-based, prospective genetic analysis. **Human Molecular Genetics**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 389–396, 2004.

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

ZHOU, D. H.; WANG, Y.; HU, W. N.; WANG, L. J.; WANG, Q.; CHI, M.; JIN, Y. Z. **SELP genetic polymorphisms may contribute to the pathogenesis of coronary heart disease and myocardial infarction: A meta-analysis**. [S. l.]: Kluwer Academic Publishers, 2014.

ANEXO I – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA – UFPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Investigação da associação de polimorfismos no gene SELP e dos níveis plasmáticos da sP-selectina com a modulação do quadro clínico de pacientes com anemia falciforme

Pesquisador: Raissa Nogueira Bernardo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 46931121.3.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.848.911

Apresentação do Projeto:

O Projeto é intitulado "Investigação da associação de polimorfismos no gene SELP e dos níveis plasmáticos da sP-selectina com a modulação do quadro clínico de pacientes com anemia falciforme." Trata de uma pesquisa de mestrado da aluna Raissa Nogueira Bernardo, a qual está vinculada ao Programa de Pós Graduação em Genética do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco. A equipe do projeto é constituída pelos Professores do Departamento de Biofísica da UFPE, Marcos André Cavalcanti Bezerra, orientador da mestranda e Antonio Roberto Lucena de Araújo. Ainda, participa como pesquisador o Dr. Aderson da Silva Araújo coordenador do Grupo de Pesquisas em Anemias e Sobrecarga de Ferro da Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco-HEMOPE. A estruturação do Projeto foi baseada na hipótese de que, polimorfismos do gene SELP poderiam estar associados com um quadro clínico adverso nos pacientes com anemia falciforme. Nesse contexto, a investigação de polimorfismos e a avaliação dos níveis plasmáticos da sP-selectina tomam-se úteis a fim de identificar possíveis marcadores prognósticos, além de fornecer novos dados sobre a patogênese da doença.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Avaliação da CONEP:

Não

ANEXO II – TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisador Responsável: Raíssa Nogueira

Bernardo E-mail: raissa_nogueira@hotmail.com

Telefone: (81) 9.9649-2903

Orientador: Prof. Dr. Marcos André Cavalcanti

Bezerra E-mail: macbezerraufpe@gmail.com

Co-orientadores: Dr. Aderson da Silva Araújo

E-mail: aderson.araujo@gmail.com

Prof. Dr. Antonio Roberto Lucena de Araujo

E-mail: araujoarl@gmail.com

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **“INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE SELP E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DA SP-SELECTINA COM A MODULAÇÃO DO QUADRO CLÍNICO DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME”**. O objetivo desta pesquisa é investigar a associação de polimorfismos no gene SELP e dos níveis plasmáticos da sP-selectina e correlacionar esses achados com a modulação do quadro clínico de pacientes

com anemia falciforme.

A participação do(a) Sr.(a) neste estudo se dará por autorizar o uso das amostras para análise em laboratório da UFPE e usar os dados do prontuário para correlacionar as amostras com o quadro clínico. Este instrumento é composto por duas etapas, a primeira etapa é coleta das amostras de pacientes dentro dos critérios de inclusão; já a segunda etapa consiste na coleta dos dados referentes aos participantes. Caso aceite participar desta pesquisa, o(a) Sr.(a) irá coletar as amostras por acesso periférico no laboratório da UFPE, onde serão analisadas.

O(a) senhor(a) será esclarecido(a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá desistir ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação neste estudo não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. A sua identidade não será revelada em nenhum momento do estudo e os resultados da pesquisa estarão à sua disposição. O(a) Sr.(a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Caso o(a) Sr.(a) concorde com a realização do estudo, solicitamos que rubrique as folhas e assine o final deste documento, que está em duas vias.

Um possível risco relacionado ao estudo, mesmo que mínimo, é de hematoma ou flebite devido à punção para coleta. Já como benefícios do estudo a importância de identificar possíveis marcadores prognósticos, além de fornecer novos dados sobre a patogênese da AF e assim colaborar para novos tratamentos para a doença.

Este termo de consentimento será disponibilizado em duas vias, sendo que uma via será arquivada pelo pesquisador responsável, nos arquivos e computadores da UFPE e a outra será fornecida ao(a) Sr.(a). Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

(Assinatura do pesquisador)

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos do estudo **“INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE SELP E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DA SP-SELECTINA COM A MODULAÇÃO DO QUADRO CLÍNICO DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME”**, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma via deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Recife, _____ de _____ de _____.

Nome (Assinatura do participante)

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o CEP / UFPE– Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço abaixo. **(Avenida da Engenharia s/n-1º Andar, sala 4- Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126-8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

CURRÍCULO LATTES

Formação acadêmica/titulação

2020

Mestrado em andamento em Genética.

Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Brasil.

Título: INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE SELP E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DA SP-SELECTINA COM A MODULAÇÃO DO QUADRO CLÍNICO DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME.

Orientador: Marcos André Cavalcanti Bezerra.

Coorientador: Aderson da Silva Araújo, Antônio Roberto Lucena.

2017 - 2018

Especialização em Enfermagem Estética.

Nepuga Pós Graduação, NEPUGA, Brasil.

Título: USO DA RADIOFREQUÊNCIA NO TRATAMENTO DA FLACIDEZ CUTÂNEA.

2013 - 2015

Especialização em Enfermagem Oncológica.

Instituto de Desenvolvimento Educacional, IDE Cursos, Brasil.

Título: DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO EM GESTANTES COM CÂNCER DE MAMA: REVISÃO INTEGRATIVA DA LITERATURA.

2009 - 2013

Graduação em Enfermagem.

Faculdade Ciências Humanas de Olinda, FACHO, Brasil.

Título: CONHECIMENTO DA EQUIPE DE ENFERMAGEM NO CONTROLE DE INFECÇÃO HOSPITALAR.

Orientador: VÂNIA MARIA.

2005 - 2007

Ensino Médio (2º grau).

Colégio Atual, CA, Brasil.

Formação Complementar

2021 - 2022

Intermediário em Pesquisa Clínica.

Hospital Alemão Oswaldo Cruz, HAOC, Brasil.

2021 - 2021

Introdução à epidemiologia clínica.

Hospital Moinhos de Vento, H MV, Brasil.

2021 - 2021

Estruturação da equipe e tópicos regulatórios.

Hospital Moinhos de Vento, H MV, Brasil.

2021 - 2021

Documentos e bancos de dados em pesquisas.

Hospital Moinhos de Vento, H MV, Brasil.

2020 - 2020

DISSEMINAÇÃO DO CONHECIMENTO CIENTÍFICO.

Hospital Moinhos de Vento, H MV, Brasil.

2020 - 2020

Protocolo de Ensaio Clínico Randomizado I.

Hospital Moinhos de Vento, H MV, Brasil.

2020 - 2020

Pesquisa clínica e utilização de drogas.

Hospital Moinhos de Vento, H MV, Brasil.

2020 - 2020

Implementando um centro de pesquisa clínica.

Hospital Moinhos de Vento, H MV, Brasil.

2020 - 2020

DISSEMINAÇÃO DO CONHECIMENTO CIENTÍFICO.

Hospital Moinhos de Vento, H MV, Brasil.

Atuação Profissional

Multihemo, MULTIH EMO, Brasil.

Vínculo institucional

2014 - Atual

Vínculo: Colaborador, Enquadramento Funcional: Enfermeira Assistencial, Carga horária: 40

Hospital de Câncer de Pernambuco, HC/PE, Brasil.

Vínculo institucional

2013 - 2014

Vínculo: Celetista, Enquadramento Funcional: Enfermeira assistencial, Carga horária: 40

Faculdade São Miguel, FSM, Brasil.

Vínculo institucional

2019 - Atual

Vínculo: Professor Visitante, Enquadramento Funcional: Professor

OrphanDC, ODC, Brasil.

Vínculo institucional

2023 - Atual

Vínculo: Celetista, Enquadramento Funcional: PESQUISA CLÍNICA

Áreas de atuação

1.

Grande área: Ciências da Saúde / Área: Enfermagem.

2.

Grande área: Ciências Exatas e da Terra / Área: Probabilidade e Estatística / Subárea: Big Data.

Produções

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1.

BERNARDO, R.N.; FERREIRA, A.L. ; SOARES, M.L.C.A. ; MORAES, V.M.S. ; BEZERRA, M.A.C. ; AGUIAR, M.A.M.S. ; SANTOS, E.P.A. ; ARAÚJO, A.S. . INFLUÊNCIA DA P-SELECTINA NAS CRISES VASO-OCCLUSIVAS EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME: REVISÃO DE LITERATURA. Hematology Transfusion And Cell Therapy, v. 42, p. 9, 2020.

2.

BERNARDO, R.N.; MORAES, V.M.S. ; GIMINO, N.M.R. ; SANTOS, A.S. ; SILVA, M.M. ; CAVALCANTI, M.R.S. ; SILVA, S.E.L.A.A.E. ; PINHEIRO, S.C.C. ; SILVA, S.L.A.C. ; BEZERRA, V.A. . ÚLCERA TERMINAL DE KENEDY UTK EM PORTADOR DE MIELOMA MÚLTIPLO INTERNADO EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA: RELATO DE CASO. Hematology Transfusion And Cell Therapy, v. 42, p. 278-279, 2020.

3.

MORAES, V.M.S. ; FERREIRA, A.L. ; MERCÊS, A.M.F. ; LAVRA, F.M. ; SOARES, M.L.C.A. ; BERNARDO, R.N. ; CAVALCANTI, M.R.S. ; SILVA, S.E.L.A.A.E. ; PINHEIRO, S.C.C. ; BEZERRA, V.A. . MANEJO DA ENFERMAGEM COM LESÕES DE PELE EM PORTADOR DE ANEMIA APLASTICA SEVERA. Hematology Transfusion And Cell Therapy, v. 42, p. 9-10, 2020.

4.
SOARES, M.L.C.A. ; MORAES, V.M.S. ; SILVA, M.A.M. ; SANTOS, E.P.A.D. ; FERREIRA, A.L. ; SANTOS, K.M.D. ; MERCÊS, A.M.F. ; BERNARDO, R.N. . ANÁLISE DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA BRASILEIRA SOBRE ADMINISTRAÇÃO DE HEMOCOMPONENTES. Hematology Transfusion And Cell Therapy, v. 42, p. 18, 2020.

Capítulos de livros publicados

1.
BERNARDO, R. N.. ONCOVÍRUS. FATORES DE VIRULÊNCIA MICROBIANOS E TERAPIAS EMERGENTES. 93ed.Paraná: Latin American Publicações, 2020, v. 03, p. 1-.
2.
BERNARDO, R. N.. H1N1. FATORES DE VIRULÊNCIA MICROBIANOS E TERAPIAS EMERGENTES. 93ed.Paraná: Latin American Publicações, 2020, v. 03, p. 10-.

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1.
15º Congresso Mineiro de Nefrologia. 2023. (Congresso).
2.
Desafios Atuais em Protocolos de Doença Falciforme.Desafios Atuais em Protocolos de Doença Falciforme. 2023. (Oficina).
3.
Fórum de Doença Falciforme.Fórum de Doença Falciforme. 2023. (Seminário).
4.
Simpósio de Enfermagem FACHO.Simpósio de Enfermagem FACHO. 2022. (Simpósio).
5.
Jornada da Epigenética. 2021. (Oficina).
6.
SIMPÓSIO DE FARMÁCIA E ENFERMAGEM ONCOLÓGICA.IMUNOTERAPIA. 2017. (Simpósio)