



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

GABRIEL LÚCIO GUIMARÃES DOS SANTOS

**VARIAÇÕES GENÉTICAS ASSOCIADAS À PERSISTÊNCIA
DA HEMOGLOBINA FETAL: UMA VANTAGEM CLÍNICA NA
BETA-TALASSEMIA**

Recife
2024

GABRIEL LÚCIO GUIMARÃES DOS SANTOS

**VARIAÇÕES GENÉTICAS ASSOCIADAS À PERSISTÊNCIA
DA HEMOGLOBINA FETAL: UMA VANTAGEM CLÍNICA NA
BETA-TALASSEMIA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Msc. Gabriela da Silva
Arcanjo

Coorientador: Prof. Dr. Marcos André
Cavalcanti Bezerra

Recife
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Santos, Gabriel Lúcio Guimarães dos.

Variações genética associadas à persistência da hemoglobina fetal: uma vantagem clínica na beta-talassemia / Gabriel Lúcio Guimarães dos Santos. - Recife, 2024.

53 p. : il., tab.

Orientador(a): Gabriela da Silva Arcanjo

Coorientador(a): Marcos André Cavalcanti Bezerra

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

Inclui referências, apêndices.

1. Síndromes talassêmicas. 2. HbF. 3. Polimorfismos. 4. SNPs. 5. PHHF. I. Arcanjo, Gabriela da Silva. (Orientação). II. Bezerra, Marcos André Cavalcanti. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

GABRIEL LÚCIO GUIMARÃES DOS SANTOS

**VARIAÇÕES GENÉTICAS ASSOCIADAS À PERSISTÊNCIA
DA HEMOGLOBINA FETAL: UMA VANTAGEM CLÍNICA NA
BETA-TALASSEMIA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Biomedicina da Universidade
Federal de Pernambuco, como
pré-requisito à obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 11/10/2024

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Mestre Gabriela da Silva Arcanjo
Departamento de Genética - UFPE

Mestre Madi Veiga Diniz
Hospital das Clínicas-UFPE
e HAM-ses/PE

Doutor Pedro Luiz de França Neto
Departamento de Genética - UFPE

Dedico este trabalho ao meu avô,
Demócrito Bastos dos Santos (*in
memoriam*) que sempre fez de tudo
para eu ser quem sou hoje.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Gabriela Arcanjo, por me acolher no NHCL, por todo apoio, paciência e acima de tudo, por todo ensinamento passado que foram essenciais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Ao professor Marcos André por ter aberto as portas do NHCL e me dado a oportunidade de me desenvolver na área que enche meus olhos, a Hematologia. Sua confiança foi fundamental para que eu pudesse explorar essa área com entusiasmo e dedicação.

Aos meus colegas de monitoria na Hematologia, especialmente minha dupla, Ednayran. Graças a vocês, a monitoria não foi só um momento de crescimento acadêmico, foi o melhor momento da minha formação.

Aos meus colegas de laboratório, Laís, João Victor, Vanessa e Laíza, que têm tornado essa fase final da graduação ainda mais especial com a troca de conhecimentos e apoio.

Sou grato também a todas as pessoas que cruzaram meu caminho durante a graduação, e em especial às mais importantes neste processo: Pedro, Beka, Bea, Bruno e Iasmim. Aos meus amigos de outros grupos, amo todos vocês.

Por fim, agradeço profundamente à minha família, especialmente aos meus pais, irmã e avós, que estiveram ao meu lado desde o início, acompanhando e me apoiando em cada passo dessa jornada.

"O sangue flui como um fio vermelho que entrelaça todas as partes do corpo, assim como a lenda de Akai Tō, que revela que cada vida é uma conexão vital. Ambas nos ensinam que, assim como as células se unem para formar a saúde, as histórias que compartilhamos criam laços de esperança e resiliência em nossa jornada."

-Inspirado em Paul Ehrlich e na lenda Akai Tō

SANTOS, Gabriel Lúcio Guimarães. **Variações genéticas associadas à persistência da hemoglobina fetal: Uma vantagem clínica na beta-talassemia**, 2024. 53 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

RESUMO

A β -talassemia é uma doença causada por mutações no gene da β -globina, levando à deficiência na síntese das cadeias de globina beta e excesso de α -globina, resultando em eritropoiese ineficaz e anemia. A persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF) é uma condição onde níveis elevados de HbF são mantidos na vida adulta, o que melhora a manifestação clínica da β -talassemia. Pessoas com PHHF mantêm níveis elevados de HbF de 20 a 30%, apresentando menos sintomas e melhores desfechos clínicos. Na β -talassemia, o excesso de cadeia alfa-globina não ligada interfere na maturação dos precursores eritroides, causando eritropoiese ineficaz e anemia. A co-herança de variações genéticas que mantêm a expressão do gene da gama-globina com a beta-talassemia podem reduzir esse desequilíbrio, pois a gama-globina se associa ao excesso de alfa-globina, formando HbF. Esse trabalho teve como objetivo descrever algumas variações genéticas responsáveis pela persistência da produção da hemoglobina fetal pós-natal, relacionando-as com a melhora clínica da β -talassemia. Para isso, foi feita uma busca nos bancos de dados PubMed, Scielo e ScienceDirect, que tiveram foco em pesquisas sobre variações genéticas associadas à persistência da hemoglobina fetal e àqueles que relacionaram essa condição com a melhora clínica de pacientes β -talassêmicos. Os resultados se concentraram na descrição de oito artigos experimentais que descreveram essas variações com ênfase em estudos sobre os genes *BCL11A* e *KLF1* que relataram variantes como rs1427407, rs11886868 (*BCL11A*) e as mutações c.304T>C, c.211A>G e c.968C>T (*KLF1*) associadas a níveis elevados de HbF, contribuindo para um fenótipo clínico mais brando da β -talassemia. Além disso, a variante S878F no gene *DNMT1* e o polimorfismo G-158Xmnl no gene γ -globina também mostraram relação com o aumento significativo da HbF. Portanto, essas variações, mostraram-se benéficas na modulação da gravidade da doença, sendo alvos potenciais de estudos futuros e tratamento utilizando tecnologias como CRISPR-Cas9.

Palavras-chave: Síndromes talassêmicas. HbF. Polimorfismos. SNPs. PHHF.

SANTOS, Gabriel Lúcio Guimarães. **Genetic variations associated with persistence of fetal hemoglobin: A clinical advantage in beta-thalassemia.** 2024. 53 pages. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

ABSTRACT

β -thalassemia is a disease caused by mutations in the β -globin gene, leading to a deficiency in the synthesis of beta-globin chains and an excess of α -globin, resulting in ineffective erythropoiesis and anemia. Hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH) is a condition where elevated levels of HbF are maintained into adulthood, which improves the clinical manifestation of β -thalassemia. People with HPFH maintain high HbF levels of 20-30%, experiencing fewer symptoms and better clinical outcomes. In β -thalassemia, the excess of unbound α -globin chains interferes with the maturation of erythroid precursors, causing ineffective erythropoiesis and anemia. The co-inheritance of genetic variations that maintain the expression of the γ -globin gene alongside β -thalassemia can reduce this imbalance, as γ -globin associates with the excess α -globin, forming HbF. This work aimed to describe some genetic variations responsible for the persistence of postnatal fetal hemoglobin production, linking them to the clinical improvement of β -thalassemia. A search was conducted in the PubMed, Scielo, and ScienceDirect databases, focusing on research related to genetic variations associated with the persistence of fetal hemoglobin and studies linking this condition to the clinical improvement of β -thalassemic patients. The results centered on the description of eight experimental articles that reported these variations, with emphasis on studies of the *BCL11A* and *KLF1* genes. These studies described variants such as rs1427407, rs11886868 (*BCL11A*), and the mutations c.304T>C, c.211A>G, and c.968C>T (*KLF1*), all associated with elevated HbF levels, contributing to a milder clinical phenotype of β -thalassemia. Additionally, the S878F variant in the *DNMT1* gene and the G-158Xmnl polymorphism in the *γ -globin* gene also showed a significant relationship with increased HbF. Therefore, these variations have proven beneficial in modulating the severity of the disease, making them potential targets for future studies and treatments using technologies such as CRISPR-Cas9.

Key words: Thalassemia syndromes. HbF. Polymorphisms. SNPs. HPFH.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquematização hipotética da formação equilibrada entre globinas alfa e não-alfa após o sexto mês de vida	16
Figura 2 – Relação entre a síntese das cadeias globínicas e o desenvolvimento humano em semanas	17
Figura 3 – Processo de apoptose do precursor eritrocitário por precipitação do excesso de cadeias alfa na β -talassemia	18
Figura 4 – Associação entre genótipos rs11886868 e proporção de HbF	32
Figura 5 – Demonstração estrutural da mutação S878F comparada com a estrutura normal da DNMT1 (WT) com ênfase na perda de duas ligações de hidrogênio na estrutura	34
Figura 6 – Relação entre os níveis de hemoglobina fetal dos pacientes com a mutação em comparação com os que não apresentaram a mutação	35
Figura 7 – Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevivência livre de transfusão entre os dois grupos de pacientes	36
Figura 8 – Sequência do gene KLF1 mostrando mutação p.Ser102Pro (c.304T>C) no estado heterozigoto	39
Figura 9 – Sequenciamento automatizado de DNA mostrando a presença de uma nova mutação no gene KLF1	42
Figura 10 – Representação da proteína KLF1 normal (A) e mutante (B) e sua interação com os aminoácidos circundantes	42
Figura 11 – Descrição dos grupos de estudo no sul e norte da China, indicando a prevalência das mutações KLF1 em diferentes regiões	43
Figura 12 – Níveis de HbA ₂ e HbF em heterozigotos de β -talassemia com e sem mutações no KLF1	45
Figura 13 – (a) Linhagem da família com mutações KLF1:p.Ser323Leu e <i>IVS1-110</i> ; <i>HBB</i> : c.93-21G>A. (b) Parte dos eletroferógrafos de sequenciamento do gene <i>KLF1</i> mostrando a nova mutação heterozigótica (p.Ser323Leu). (c) Representação esquemática da proteína KLF1	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação entre fenótipo, arranjo dos genes de Arranjo de β -genes da globina e sintomatologia de cada tipo de β -talassemia	21
Tabela 2 – Relação entre fenótipo, sintomatologia, gravidade e fatores amenizantes de cada tipo de β -talassemia	22
Tabela 3 – Artigos utilizados nos resultados	28
Tabela 4 – Relação dos polimorfismos estudados de cada gene e a metodologia utilizada	29
Tabela 5 – Polimorfismos dos genes estudados que demonstraram significância no aumento dos níveis de HbF	30
Tabela 6 – Resultados da análise sequencial dos SNPs associados aos níveis de HbF	31
Tabela 7 – Relação dos genótipos do SNP rs11886868 com os níveis médios de HbF nas crianças avaliadas	33
Tabela 8 – Perfil dos pacientes em relação a níveis de HbF, estado da α -Globina, polimorfismo G-158Xmnl, configuração do motivo (AT)(x)T(y) em -540 do gene da beta-globina e mutações no gene da β -globina	37
Tabela 9 – Relação de indivíduos estudados com HbF aumentada, genótipo da mutação p.Ser102Pro (c.304T>C) e o polimorfismo Xml	39
Tabela 10 – Análise Hematológica e Molecular da Família	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HbA	Hemoglobina adulta normal
HbA ₂	Hemoglobina A ₂
HbF	Hemoglobina Fetal
α-globina	Alfa-globina
β-globina	Beta-globina
δ-globina	Delta-globina
γ-globina	Gama-globina
ε-globina	Globina embrionária
PHHF	Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal
HBB	Gene codificante da cadeia beta da hemoglobina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	SÍNTESE DA HEMOGLOBINA HUMANA	15
2.2	Hemoglobina Fetal	17
2.3	Hemoglobinopatias	18
2.4	Beta-talassemia	18
2.4.1	Fisiopatologia	19
2.4.2	Manifestações Clínicas	20
2.4.3	Tratamento	23
2.5	Benefícios da Hemoglobina Fetal Aumentada na Beta-talassemia	24
2.6	Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal	25
2.6.1	Mutações associadas à PHHF	25
3	OBJETIVOS	27
4	METODOLOGIA	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1 Introdução

A hemoglobina é uma molécula globular formada por quatro cadeias de globinas que constituem dois pares: um par de cadeias alfa(α) e um par de cadeias beta(β). Os genes que controlam a síntese das hemoglobinas estão localizados no braço curto do cromossomo 16 (cluster dos genes α) e no braço curto do cromossomo 11 (cluster dos genes β) (Zago, 2013).

Os genes da globina estão agrupados no genoma e suas expressões são reguladas por uma variedade de elementos de ação cis e fatores de ação trans (Ju; Zhao, 2018). Os genes do cluster β estão no braço curto do cromossomo 11, na ordem 5'- ϵ -G γ -A γ - ψ β - δ - β -3', a mesma ordem em que são ativados durante o desenvolvimento ontogenético. Os genes gama (γ) predominam durante o desenvolvimento fetal, produzindo a HbF (hemoglobina fetal) (Zago, 2013).

A troca de hemoglobina é o fenômeno da transição das propriedades físicas e funcionais da hemoglobina durante o desenvolvimento de um indivíduo (Cao; Moi, 2002). Essa troca está associada à mudança no padrão de expressão dos genes da globina do tipo β presentes no cromossomo 11. A primeira mudança de hemoglobina envolve uma transição na expressão de ϵ -globina (globina embrionária) para γ -globina. Os dímeros da γ -globina produzidos no cromossomo 11 combinam-se com os dímeros da α -globina produzidos no cromossomo 16 para formar a hemoglobina fetal (HbF) ($\alpha_2\gamma_2$). A segunda mudança é marcada por uma regulação negativa das cadeias γ -globina com uma regulação positiva na expressão das cadeias β -globina, que ocorre por volta do momento do nascimento. Isso resulta na produção de hemoglobina adulta (HbA) ($\alpha_2\beta_2$) (Venkatesan *et al.*, 2021).

A β -talassemia é uma das doenças autossômicas recessivas mais comuns causadas por mutações no gene da β -globina, ocorre quando há deficiência na síntese das cadeias de globina beta (Ju; Zhao, 2018). O excesso de conteúdo de α -globina, que não se liga a β -globina, nas células eritroides, resulta em uma eritropoiese ineficaz e na apoptose na linhagem eritroide (Finotti *et al.*, 2015). As manifestações clínicas da β -talassemia são extremamente diversas, abrangendo um amplo espectro desde anemia grave e dependência de transfusão até o estado assintomático de traço talassêmico (Thein, 2005). Nas formas mais graves, encontradas em homocigotos ou heterocigotos compostos, a anemia é letal nos primeiros anos de vida na ausência de qualquer tratamento (Sedelain *et al.*, 2005).

Níveis anormalmente elevados de hemoglobina fetal (HbF) na vida adulta,

conhecidos como persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF), descritos há 60 anos, melhoram o quadro clínico debilitante das mutações da β -globina na β -talassemia (Bao *et al.*, 2021). Grandes deleções do locus da globina beta ou mutações pontuais únicas ou pequenas deleções dentro do promotor proximal da globina γ podem causar PHHF. A maioria das mutações do PHHF agrupa-se -115 e -200 pb a montante do sítio de início da transcrição do gene da globina γ (Martyn *et al.*, 2019). A co-herança da β -talassemia com mutações associadas a persistência da hemoglobina fetal melhora a gravidade da doença pela expressão contínua de γ -globina, compensando as cadeias de β -globina diminuídas ou defeituosas (Shaukat *et al.*, 2018). Por exemplo, pessoas com persistência hereditária de hemoglobina fetal mantêm níveis elevados de HbF de 20 a 30% e apresentam menos sintomas e melhores resultados clínicos (Starlard-Devenport *et al.*, 2021).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SÍNTESE DA HEMOGLOBINA HUMANA

A hemoglobina consiste em quatro grupos heme, cada um ligado a uma unidade de cadeia globínica: duas alfa e duas não alfa. A composição das quatro cadeias de globina determina o tipo de hemoglobina. A hemoglobina fetal (HbF) possui duas cadeias alfa e duas cadeias gama ($\alpha_2\gamma_2$). A hemoglobina A (HbA) adulta possui duas cadeias alfa e duas cadeias beta ($\alpha_2\beta_2$), enquanto a hemoglobina A₂ (HbA₂) possui duas cadeias alfa e duas cadeias delta ($\alpha_2\delta_2$). Ao nascer, a HbF representa aproximadamente 80% da hemoglobina e a HbA representa 20% (Richardson, 2007).

A transição da síntese de gama globina (HbF) para a síntese de beta globina (HbA) começa antes do nascimento. Por volta dos seis meses de idade, os bebês saudáveis terão transitado principalmente para HbA, uma pequena quantidade de HbA₂ e HbF insignificante (Muncie Jr; Campbell, 2009).

As cadeias de globina são codificadas por genes de globina localizados em diferentes clusters, o α -cluster no cromossomo 16 e o β -cluster no cromossomo 11. O α -cluster contém os genes α_1 e α_2 expressos na vida fetal e pós-natal. O β -cluster contém genes ativos com expressão diferencial durante o desenvolvimento, incluindo os $G\gamma$ e $A\gamma$ fetal (Gama) e os genes δ (delta) e β (beta) pós-natais (**Figura 1**). Durante a vida embrionária, fetal e pós-natal, esses genes codificarão, respectivamente, os tetrâmeros embrionários a HbF fetal e a HbA₂ pós-natal e HbA (Amato *et al.*, 2014).

A transcrição do gene da globina humana leva à expressão de precursores de RNA mensageiro (mRNA) no núcleo que são subsequentemente processados em mRNAs de globina maduros no citoplasma. Aqui, a maquinaria translacional da célula, incluindo enzimas e ribossomos, resulta na produção de globinas que se combinam com o heme para formar as hemoglobinas humanas normais (Bank, 2006).

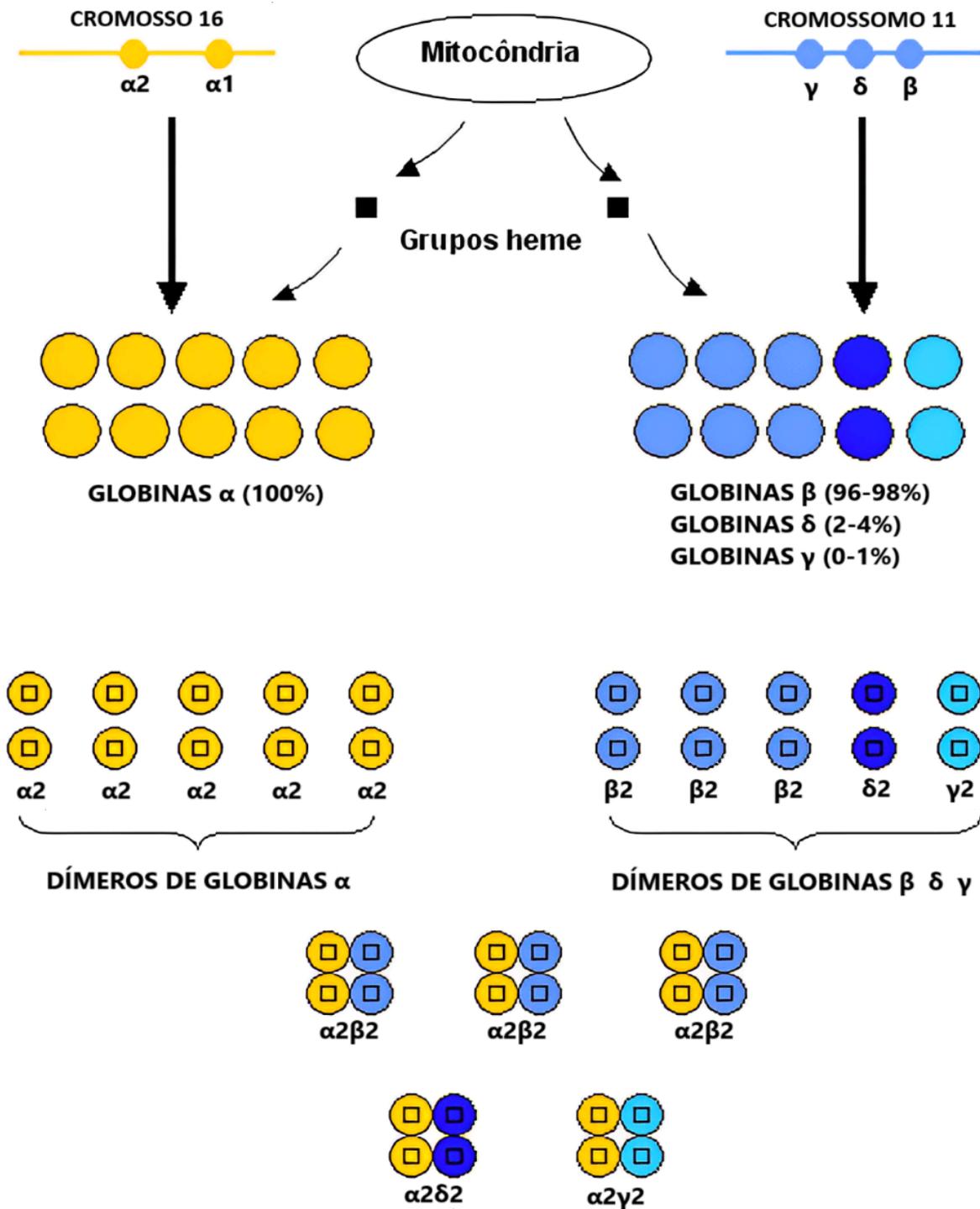


Figura 1 – Esquematização hipotética da formação equilibrada entre globinas alfa e não-alfa (β , δ e γ) após o sexto mês de vida (Naoum;Naoum, 2013).

2.2 Hemoglobina fetal

A hemoglobina fetal (HbF) é o tetrâmero de alta afinidade ao oxigênio que pode transferir oxigênio da circulação materna para a fetal. Embora seja predominante no feto a partir de cerca de 10 semanas de gestação até o nascimento, em condições normais apenas traços de HbF (<1%) estão presentes na vida pós-natal após 1 ano de idade (Amato *et al.*, 2014). Por outro lado, a HbF pode permanecer elevada após o nascimento devido a condições patológicas como talassemia β maior ou em talassemia β menor, ou em condições não patológicas, como persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF) (Sharma *et al.*, 2020).

Ao nascer, um bebê tem em seu sangue em média 20% de HbA e 80% de HbF que 1 ano depois será quase totalmente substituída por HbA, a principal Hb nas hemácias pós-natais e cerca de 2,5% de Hb A2. Aos dois anos de idade, o nível de HbF em condições normais deve ser menor que 1% (**Figura 2**) e qualquer nível de HbF maior do que isso tem uma razão (Amato *et al.*, 2014). O controle do processo de troca da HbF para a HbA é parcialmente compreendido e depende em grande parte da ativação de repressores de HbF como o gene *BCL11A* (Steinberg, 2022).

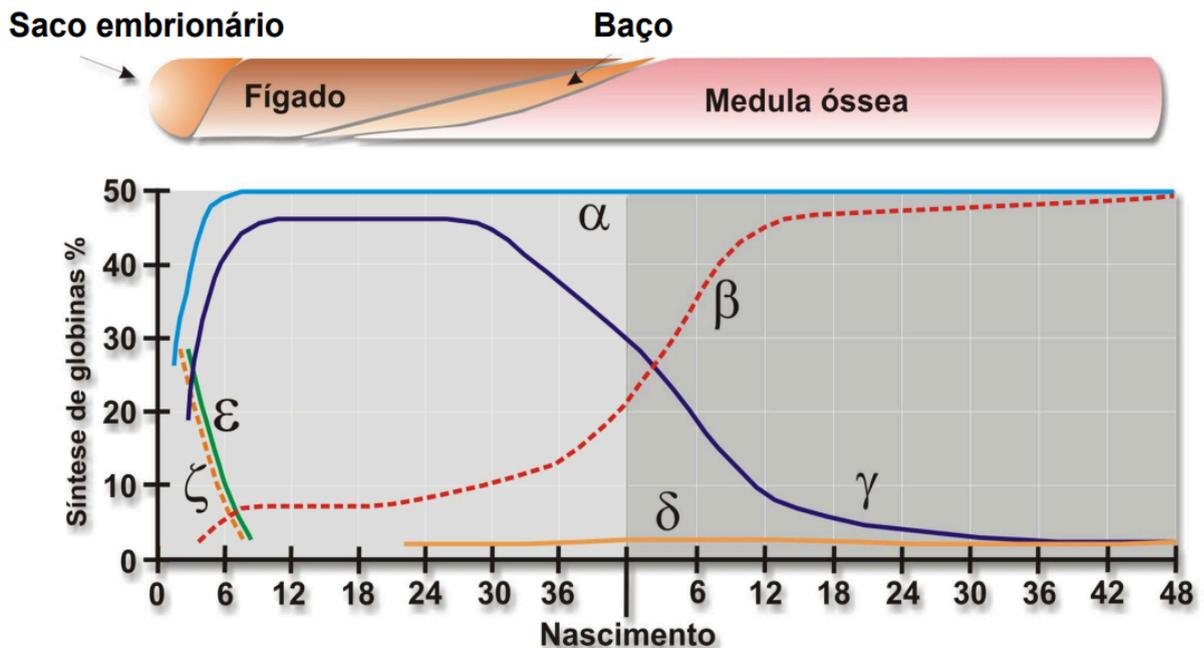


Figura 2 – Relação entre a síntese das cadeias globínicas e o desenvolvimento humano em semanas (Silva Jr, 2024).

O desenvolvimento dos genes da globina γ está provavelmente relacionado ao aumento da afinidade da HbF com o oxigênio em comparação com a HbA, o que favorece a oferta de oxigênio ao feto na circulação placentária. A mudança da expressão do gene da γ humana para a β -globina no final da vida fetal é um evento importante na biologia da hemoglobina. As consequências dessa mudança levam a doenças em humanos: as hemoglobinopatias como a anemia falciforme (SS) e β -talassemia (Bank, 2006).

2.3 Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias são o grupo mais comum de doenças genéticas em todo o mundo, geralmente herdadas de maneira autossômica recessiva e caracterizadas pela síntese reduzida das cadeias globínicas da hemoglobina nos glóbulos vermelhos (Talassemias) ou por alterações estruturais da hemoglobina (hemoglobinas variantes). Estima-se que 7% da população mundial seja portadora de uma variante patogênica associada à hemoglobinopatia e que nasçam anualmente cerca de 300.000 a 400.000 indivíduos afetados (Mamas *et al.*, 2022). Os distúrbios da hemoglobina são identificados pela alteração das proporções dos tetrâmeros de hemoglobina normais, descritos anteriormente, ou pelo aparecimento de hemoglobinas estruturalmente anormais (Greene *et al.*, 2015). Apesar de serem conhecidas cerca de 1400 variantes (Giardine *et al.*, 2014), a maioria delas é assintomática ou muito rara. As variantes estruturais que são frequentes e relevantes do ponto de vista clínico são HbS, HbC, HbD, HbE e as hemoglobinas instáveis (Zago, 2013).

As β -hemoglobinopatias, particularmente a doença falciforme (DF) e a β -talassemia, são um grupo de doenças monogênicas recessivas hereditárias marcadas pela produção defeituosa ou diminuída de cadeias de β -globina, respectivamente (Venkatesan *et al.*, 2021).

2.4 Beta-talassemia

A β -talassemia é o resultado da síntese deficiente ou ausente das cadeias beta-globínicas, levando ao excesso de cadeias alfa. A β -talassemia ocorre a partir de qualquer uma das mais de 200 mutações pontuais e (raramente) deleções dos

dois genes. A produção da cadeia beta globina pode variar de quase normal a completamente ausente, levando a vários graus de excesso de produção da cadeia alfa globina (Muncie Jr, H., Campbell, J., 2009).

A β -talassemia é uma das doenças autossômicas recessivas mais comuns em todo o mundo. Alta prevalência está presente em populações do Mediterrâneo, Oriente Médio, Transcáucaso, Ásia Central, subcontinente indiano e Extremo Oriente. Também é relativamente comum em populações de ascendência africana. As incidências mais elevadas são registradas em Chipre (14%), Sardenha (12%) e Sudeste Asiático (Cao; Galanello, 2010). A alta frequência gênica da β -talassemia nessas regiões está provavelmente relacionada à pressão seletiva da malária por *Plasmodium falciparum*, como é indicado por sua distribuição bastante semelhante à da endemia de malária presente ou passada (Flint *et al.*, 1993). Os portadores de β -talassemia estão, de fato, relativamente protegidos contra a invasão do *Plasmodium falciparum*. No entanto, devido à migração populacional e, em uma extensão limitada, ao tráfico de escravos, a β -talassemia é, atualmente, também comum no norte da Europa, América do Norte e do Sul, Caribe e Austrália (Cao; Galanello, 2010).

2.4.1 Fisiopatologia

As cadeias de globina não pareadas são instáveis, no caso da β -talassemia, as cadeias alfa precipitam-se intracelularmente (formação dos hemicromos), resultando em hemólise, destruição prematura (por apoptose) de precursores eritrocitários na medula óssea e curta vida útil de hemácias maduras na circulação (**Figura 3**). Os produtos de degradação da Hb, heme e ferro, catalisam reações químicas que geram radicais livres, incluindo espécies reativas de oxigênio (EROs), que em excesso são tóxicas, causando danos a órgãos vitais como coração e fígado e ao sistema endócrino (Rund; Rachmilewitz, 2005).

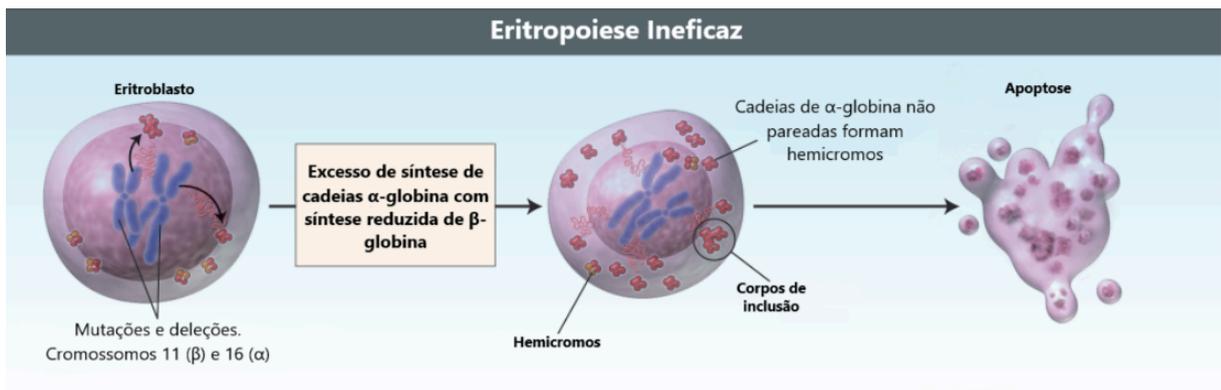


Figura 3 – Processo de apoptose do precursor eritrocitário por precipitação do excesso de cadeias alfa na β -talassemia (adaptado de Rund; Rachmilewitz, 2005)

Além disso, as cadeias precipitadas também alteram a membrana eritrocitária, contribuindo para a destruição precoce das hemácias no baço e para a poiquilocitose (Zago, 2013).

Durante a vida pré-natal em humanos, a principal Hb é a Hb fetal (HbF) que é substituída durante o primeiro ano de vida por HbA. Assim, as características clínicas das β -hemoglobinopatias, incluindo β -talassemia, não são aparentes ao nascimento; somente à medida que os níveis de HbF diminuem, os sintomas se manifestam (Fibach; Rachmilewitz, 2017). Pacientes com β -talassemia produzem níveis elevados, mas variáveis, de HbF em comparação com indivíduos normais. Altos níveis de HbF melhoram a gravidade da doença, principalmente pela redução do excedente das cadeias de α -globina. Esses achados têm motivado a pesquisa dos mecanismos de troca de Hb, bem como de modalidades farmacológicas e de modificação gênica para reativar a expressão dos genes da globina γ e produção de HbF (Sripichai; Fucharoen, 2016).

2.4.2 Manifestações e formas clínicas

O sintoma clínico básico da β -talassemia é a anemia crônica – redução do número de hemácias e seu conteúdo de Hb, resultante da deficiência na produção de Hb e hemólise. A gravidade clínica da β -talassemia está relacionada à extensão do desequilíbrio entre as cadeias de globina alfa e globina não alfa. As cadeias de globina não alfa incluem, além das cadeias de globina beta, também as cadeias

gama, que são um componente específico da Hb fetal e estão presentes em pequena quantidade em indivíduos adultos normais e em quantidade aumentada, mas variável, nas síndromes talassêmicas beta. Dentro dos precursores das hemácias, quando as cadeias de globina beta estão reduzidas ou ausentes, as cadeias alfa desmontadas precipitam e levam a danos oxidativos da membrana celular, resultando em apoptose (eritropoiese ineficaz) (Cao; Galanello, 2010).

Sobre as correlações Genótipo-Fenótipo, variantes β^0 (ausência de produção de subunidade beta da hemoglobina) resultam de alguns tipos de variações genéticas como: *HBB nonsense* (introdução de um códon de parada prematuro durante a síntese de proteínas, resultando em uma cadeia beta incompleta ou ausente), *frameshift* (ocorre quando há inserção ou deleção de nucleotídeos no gene *HBB*) e algumas variantes de *splicing* (onde os íntrons são removidos e os éxons são unidos). Variantes β^0 bialélicas geralmente resultam em β -talassemia maior (**Tabela 1**). As variantes β^+ (produção reduzida da subunidade beta da hemoglobina) resultam de variantes *HBB* patogênicas localizadas em íntrons, promotores, sinal de poliadenilação e região não traduzida 5' ou 3', bem como algumas variantes de *splicing* (Taniguti, 2020; Langer, 2021). Esses genótipos β -talassêmicos podem se combinar de formas distintas, e o tipo e gravidade funcional das mutações podem determinar quadros clínicos leves/assintomáticos a graves.

Tabela 1 - Relação entre fenótipo, arranjo dos genes de Arranjo de β -genes da globina e sintomatologia de cada tipo de β -talassemia (Adaptado de Kohne, 2011).

Fenótipo da β -talassemia	Arranjo de β -genes da globina
β -talassemia menor	β/β^+ β/β^0
β -talassemia intermediária	β^+/β^+ β^+/β^0 (HbA até 30%)
β -talassemia maior	β^+/β^0 (HbA > 10%) β^0/β^0

A β -talassemia maior, causa anemia hemolítica, crescimento deficiente e anormalidades esqueléticas durante a infância. Os bebês afetados com talassemia maior não conseguem prosperar e tornam-se progressivamente pálidos. Podem ocorrer problemas de alimentação, diarreia, irritabilidade, crises recorrentes de febre e aumento do abdômen, causados por esplenomegalia e necessitarão de transfusões de sangue regulares ao longo da vida. A β -talassemia intermediária é menos grave que a β -talassemia maior e pode exigir transfusões de sangue episódicas (**Tabela 1 e 2**). Pacientes dependentes de transfusão desenvolverão sobrecarga de ferro e necessitarão de terapia de quelação para remover o excesso de ferro. Os transplantes de medula óssea podem ser curativos para algumas crianças com β -talassemia maior. Pessoas com traço de talassemia têm uma expectativa de vida normal. (Muncie Jr; Campbell, 2009).

As características clínicas da β -talassemia não são aparentes ao nascimento, devido a HbF ser predominante durante o primeiro ano de vida. somente à medida que os níveis de HbF diminuem, os sintomas se manifestam (Fibach; Rachmilewitz, 2017).

Tabela 2 - Relação entre fenótipo, sintomatologia, gravidade e fatores amenizantes de cada tipo de β -talassemia (Adaptado de Rund; Rachmilewitz, 2005).

	Traço de Talassemia	Talassemia Intermediária	Talassemia Maior
Manifestações clínicas	Anemia leve ou inexistente, com microcitose variável (volume corpuscular médio, de 60 a 96); sem esplenomegalia; sem doenças ósseas	Anemia leve a moderada; relativa independência de transfusões; esplenomegalia proeminente e deformidades ósseas; graus variáveis de sobrecarga de ferro, dependendo da gravidade da anemia e da necessidade de transfusões	Anemia grave que requer transfusões regulares desde a infância; esplenomegalia e doenças ósseas, dependendo da eficácia da terapia transfusional; sobrecarga severa de ferro

Gravidade	Assintomático	De assintomático a gravemente sintomático	Cuidados de suporte ao longo da vida necessários
Fatores genéticos que amenizam	Presença concomitante de α -talassemia	Presença concomitante de α -talassemia; hemoglobina F elevada	Presença concomitante de α -talassemia; hemoglobina F elevada

2.4.3 Tratamento

A esplenectomia é comumente praticada para tratar pacientes com β -talassemia dependentes de transfusão, pois diminui a frequência das transfusões, aumentando a sobrevivência dos glóbulos vermelhos e a quantidade de glóbulos vermelhos circulantes no sangue (Borgna-pignatti; Gamberini, 2011). A única cura disponível para pacientes que sofrem de β -talassemia é um transplante de medula óssea (TMO) com células que abrigam um gene beta-globina funcional (Guerra *et al.*, 2018). Na β -talassemia maior e na forma mais grave da intermediária, a transfusão de sangue é um meio de corrigir a anemia, suprimir a eritropoiese ineficaz e inibir o aumento da absorção gastrointestinal de ferro. Nesse caso, a terapia de quelatação pode prevenir a sobrecarga de ferro transfusional, para isso, utiliza-se fármacos como a Deferoxamina B, Deferiprona e Deferasirox, além de terapias combinadas (Langer, 2021).

A tecnologia de transferência genética (GT) e o TMO autólogo fornecem uma alternativa com potencial para alcançar mais pacientes. O desenvolvimento de vetores lentivirais seguros e a descoberta da região de controle do locus da β -globina (LCR) tornaram a GT uma possibilidade para a β -talassemia (Guerra *et al.*, 2018). Essa técnica se baseia na adição de genes por transferência baseada em vetores e integração cromossômica. Neste caso, a transferência seria de um gene de globina normal, juntamente com elementos reguladores cis-ligados adequados em HSCs (Payen *et al.*, 2018).

Vários compostos têm sido testados *in vitro* e em modelos animais quanto à sua capacidade de reativar os genes da γ -globina. Atualmente, o único composto em uso clínico é a hidroxíureia, um inibidor do ciclo celular em fase S. No entanto, seu

mecanismo de ação sobre a HbF permanece indefinido, um subgrupo de pacientes é resistente e seu efeito na β -talassemia é inferior ao da doença falciforme (Fucharoen *et al.*, 2013). A hidroxiureia também foi um indutor farmacológico amplamente utilizado de HbF na β -talassemia, mas o efeito é limitado a casos selecionados de β -talassemia intermediária (Glenthøj, 2021).

Novos agentes incluem aqueles que afetam os reguladores da cromatina (como a decitabina na metilação do DNA e inibidores da histona desacetilase) e outros que afetam os fatores de transcrição de ligação ao DNA. O aumento da produção de γ -globina tem sido realizado usando vetores lentivirais que expressam uma proteína dedo de zinco que interage com o promotor do gene da γ -globina ou carregando microRNAs que silenciam seus repressores (Guda *et al.*, 2015). Dois potentes repressores transcricionais da γ -globina, BCL11A e ZBTB7A, foram identificados. Eles atuam junto com outros mecanismos que controlam a expressão dos genes, utilizando fatores específicos que determinam o tipo de célula e processos de desenvolvimento para desligar os genes responsáveis pela produção de γ -globina. A inibição desses repressores poderia reativar a produção de γ -globina em pacientes adultos (Fibach; Rachmilewitz, 2017). A maioria dos estudos teve como alvo a BCL11A. Pesquisadores administraram oligonucleotídeos antisense, que são pequenas sequências de DNA ou RNA usadas para bloquear a atividade de genes específicos, em células de eritroleucemia que expressam BCL11A e KLF1. O gene KLF1 ativa a expressão do gene da β -globina e ajuda a desligar o gene da γ -globina, possivelmente através do BCL11A (Tallack; Perkins, 2010). Para inibir o BCL11A, em estágios pré-clínicos, foram usadas técnicas de edição de genes, como nucleases de dedo de zinco (ZFNs), TALENs e a tecnologia CRISPR/Cas9. Todas essas abordagens conseguiram reduzir a expressão da proteína BCL11A, o que, por sua vez, ativou a expressão do gene da γ -globina (Bjurstrom *et al.*, 2016).

2.5 Benefícios da Hemoglobina Fetal Aumentada na Beta-talassemia

Na β -talassemia, a principal causa da condição é um desequilíbrio na proporção das cadeias de globina, em que o excesso da cadeia α -globina não ligada se acumula, interferindo na maturação dos precursores eritróides, resultando, em última análise, em eritropoiese ineficaz e anemia (Philipsen, 2013). Dessa forma, a persistência da expressão do gene da γ -globina em pacientes com β -talassemia

pode resultar em uma diminuição do desequilíbrio na cadeia de globina, já que a γ -globina produzida irá se associar ao excesso da cadeia de α -globina não ligada (Hariharan; Nadkarni, 2021).

2.6 Persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF)

A persistência da HbF na vida adulta pode ser uma condição não patogênica como na PHHF ou estar associada a outros estados patológicos. A persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF) é uma doença hereditária benigna assintomática rara com persistência da HbF na vida adulta (Patel *et al.*, 2015). O gene da γ -globina fetal é silenciado no momento do nascimento e indivíduos normais expressam hemoglobina fetal (HbF) em níveis de ~1%. A PHHF é uma condição benigna na qual os genes duplicados da γ -globina fetal ($^A\gamma/^G\gamma$) continuam a ser expressos e produzem HbF ao longo da idade adulta (Martyn *et al.*, 2019).

A PHHF pode ser pancelular ou heterocelular com base no padrão de distribuição da hemoglobina. Na PHHF pancelular, o nível de HbF pode variar de 10 a 40 %, causada por grandes deleções no gene da subunidade da globina beta humana ou por mutações pontuais nos promotores dos genes da globina gama (PHHF sem deleção). Por outro lado, na PHHF heterocelular há apenas um modesto aumento nos níveis de HbF e a hemoglobina está distribuída de forma desigual entre os eritrócitos (Shaukat *et al.*, 2018).

A pequena quantidade de HbF restante nos adultos está sob controle genético: em algumas famílias há uma tendência a herdar níveis ligeiramente elevados. Além disso, há numerosos exemplos de mutações ou deleções do cluster β que determinam a produção de quantidade moderada ou acentuadamente elevada de HbF durante a vida adulta e essa condição pode ser benéfica quando herdada com genes de hemoglobinopatias. (Zago, 2013).

2.6.1 Mutações associadas a PHHF

Observa-se que a PHHF está associada a mutações que ocorrem naturalmente na região promotora da γ -globina (Hariharan; Nadkarni, 2021). Recentemente, foi demonstrado que os 2 principais repressores de HbF, BCL11A e ZBTB7A se ligam diretamente e reprimem o gene da γ -globina através dos sítios

-115 e -200, respectivamente. Mutações nesses locais, interrompendo a ligação, dão origem a PHHF (Martyn *et al.*, 2019).

Algumas dessas mutações são polimorfismos bastante comuns, como o -158 C>T (ou Xmn-I) que aumenta a expressão de HbF apenas durante o estresse eritropoiético. O alelo T do polimorfismo XmnI está ligado aos níveis elevados de HbF e a condições mais leves de hemoglobinopatias (Amato *et al.*, 2014). Acredita-se que os mecanismos subjacentes à expressão contínua de HbF com essas mutações envolvam alterações nos motivos de ligação às proteínas que, em última análise, eliminam a ligação de repressores ou intensificadores que afetam a expressão gênica (Hariharan; Nadkarni, 2021).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever algumas variações genéticas, existentes na literatura, responsáveis pela persistência da produção da hemoglobina fetal pós-natal como vantagem clínica na β -talassemia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever mecanismos e variações genéticas que alteram a produção de HbF em pacientes com β -talassemia.
- Avaliar o impacto clínico do aumento da HbF em pacientes β -talassêmicos
- Descrever e comparar os estudos experimentais que avaliaram variações genéticas que modulam a HbF na β -talassemia.

4 METODOLOGIA

Este trabalho se trata de uma Revisão Integrativa de Literatura. Assim, foi feita uma busca em diferentes bases de dados científicos a fim de obter-se dados acerca do tema proposto nesta monografia. Para isso, foram utilizados os seguintes bancos de dados: PubMed, Scielo e ScienceDirect, com os descritores: “Variações genéticas”, “Hemoglobina fetal”, “Persistência hereditária da hemoglobina fetal”, “Beta-talassemia”, “hemoglobinopatias” com o auxílio do booleano “AND” para a inclusão de artigos. Foram incluídos oito artigos em inglês, que tiveram foco na pesquisa de variações genéticas associadas à persistência da hemoglobina fetal e aqueles que relacionaram essa condição com a melhora clínica de pacientes β -talassêmicos, além de sites e livros para a revisão de literatura acerca do tema. Foram excluídos estudos, teses e/ou relatos de casos em que os indivíduos não sejam portadores de β -talassemia, e dissertações e revisões em que não relacionou-se a persistência da hemoglobina fetal com a clínica da doença.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise dos artigos incluídos, foram selecionados 8 artigos experimentais que descrevem variações genéticas que levam à persistência da hemoglobina fetal em pacientes β -talassêmicos (**Tabela 3**).

Tabela 3 - Artigos utilizados nos resultados

Autores e ano	Título	Variações genéticas
Tripathi <i>et al.</i> , 2023.	Impact of Genetic Polymorphisms in Modifier Genes in Determining Fetal Hemoglobin Levels in Beta-Thalassemia	Polimorfismos nos genes <i>BCL11A</i> , <i>HBS1L-MYB</i> e <i>KLF1</i>
Uda <i>et al.</i> , 2008.	Genome-wide association study shows <i>BCL11A</i> associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of beta-thalassemia	Polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) no gene <i>BCL11A</i> : rs11886868
Gong <i>et al.</i> , 2021.	A natural DNMT1 mutation elevates the fetal hemoglobin level via epigenetic derepression of the γ -globin gene in β -thalassemia	Mutação S878F no domínio DNMT1 (códon 2633 G→A)
Bandyopadhyay <i>et al.</i> , 2005.	Two beta-globin cluster-linked polymorphic loci in thalassemia patients of variable levels of fetal hemoglobin	Mutações da β -globina, Polimorfismo Xmn-I e configuração de um motivo (AT)(x)T(y) em -540 do gene da β -globina.
Hamid <i>et al.</i> , 2018.	Mutation Screening of the Krüppel-like Factor 1 Gene in Individuals With Increased Fetal Hemoglobin Referred for Hemoglobinopathy Investigation in South of Iran	Mutação no gene <i>KLF1</i> : p.Ser102Pro (códon 304 T>C)
Hariharan <i>et al.</i> , 2018.	Does the Novel <i>KLF1</i> Gene Mutation Lead to a Delay in	Mutação no gene <i>KLF1</i> (códon 211 A→G)

	Fetal Hemoglobin Switch?	
Liu <i>et al.</i> , 2014.	KLF1 mutations are relatively more common in a thalassemia endemic region and ameliorate the severity of β -thalassemia	Sete variantes funcionais no gene KLF1
Fanis <i>et al.</i> , 2019.	a novel mutation in the erythroid transcription factor KLF1 is likely responsible for ameliorating β -thalassemia major	Mutação c.968C>T (p.Ser323Leu) do gene KLF1

Fonte: o autor (2024)

Tripathi *et al.*, em 2023, realizaram um estudo que avaliou 100 pacientes com β -talassemia maior com menos de 5 anos de idade, registrados no Departamento de Hematologia e Genética Médica do Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences. Analisaram-se 11 polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) nos genes *BCL11A*, *HBS1L-MYB* e *KLF1* (**Tabela 4**).

Tabela 4 - Relação dos polimorfismos estudados de cada gene e a metodologia utilizada. (Adaptado de Tripathi *et al.*, 2023)

Gene	Polimorfismo	Metodologia
<i>BCL11A</i>	rs766432	ARMS-PCR
	rs4671393	ARMS-PCR
	rs11886868	ARMS-PCR
	rs7557939	RFLP
	rs1427407	RFLP
	rs10189857	ARMS-PCR
<i>HBS1L-MYB</i>	rs9399137	ARMS-PCR

	rs9376090	ARMS-PCR
	rs28384513	ARMS-PCR
<i>KLF1</i>	rs2072597	RFLP
	rs112631212	RFLP

PCR-RFLP (Sistema de Amplificação Refratário a Mutação - Reação em Cadeia da Polimerase): técnica que permite amplificar apenas os alelos que contêm mutações específicas, sendo capaz de distinguir entre variantes alélicas normais e mutantes. ARMS-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase - Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição): técnica de PCR combinada com a digestão de enzimas de restrição para identificar variações na sequência de DNA.

Em relação ao gene *BCL11A*, o polimorfismo rs1427407 mostrou uma forte correlação com níveis elevados de HbF (>40%), com genótipos GT e TT associados a maior expressão de HbF. O polimorfismo rs11886868 também foi associado à elevação nos níveis de HbF, com o genótipo CT sendo o mais significativo.

Para o gene *HBS1L-MYB*, O polimorfismo que apresentou uma associação significativa com os níveis de HbF foi o rs9399137, com o genótipo CC sendo associado a níveis mais altos de HbF.

Por fim, o polimorfismo rs112631212 do gene *KLF1* também mostrou variação significativa nos níveis de HbF, com os genótipos mutantes (GG) relacionados a níveis mais elevados (**Tabela 5**).

Tabela 5 - Polimorfismos dos genes estudados que demonstraram significância no aumento dos níveis de HbF (Adaptado de Tripathi *et al.*, 2023).

Gene	Polimorfismo	Genótipos	Níveis de HbF >40%	P-valor
<i>BCL11A</i>	rs1427407(G>T)	GG, GT, TT	GT, TT: ↑ Níveis de HbF	0.034, 0.039
	rs11886868(C>T)	CC, CT, TT	CT: ↑ Níveis de HbF	0.008
<i>HBS1L-MYB</i>	rs9399137 (T>C)	TT, TC, CC	CC: ↑ Níveis de HbF	0.041

<i>KLF1</i>	rs112631212 (T>G)	TT, TG, GG	GG: ↑ Níveis de HbF	0.049
-------------	-------------------	------------	---------------------	-------

Ainda sobre o gene *BCL11A*, em 2008, Uda *et al.* realizaram um estudo de associação, onde foram recrutados e fenotipados 6.148 indivíduos sardos. Durante o exame físico, uma amostra de sangue foi coletada para realizar todos os testes necessários. A análise de ligação e associação incluiu 362.129 SNPs com frequência de alelo menor >5%, filtrados por qualidade. A análise de ligação identificou um escore lod >3 (Logarithm of Odds) na região do cluster da globina β no cromossomo 11 para níveis de HbF. Após a análise, nove SNPs foram associados fortemente com os níveis elevados de HbF (**Tabela 6**).

Tabela 6 - Resultados da análise sequencial dos SNPs associados aos níveis de HbF. Cada SNP está relacionado com o cromossomo e a posição no genoma, o efeito sobre os níveis de HbF (expresso em unidades de desvio padrão), e o valor de P indicando a significância estatística da associação observada (Adaptado de Uda *et al.*, 2008).

Traço	SNP	Cromossomo	Posição	Efeito	P-Value
HbF	rs11886868	2	60631897	-0,486	6.70×10^{-35}
	rs4895441	6	135468266	-0,340	$1,60 \times 10^{-20}$
	rs4910742	11	5263085	-0,581	$1,20 \times 10^{-21}$
	rs6037828	20	437009	-0,457	8.80×10^{-10}
	rs1391619	11	5412505	-0,163	1.10×10^{-9}
	rs840716	11	4910038	-0,332	9.30×10^{-9}
	rs7937649	11	5178955	0.186	7.30×10^{-8}
	rs968856	11	5217152	-0,118	6.70×10^{-7}
	rs10837540	11	5170989	0.157	$1,80 \times 10^{-7}$

A análise de variações genéticas sugeriu que o SNP rs11886868 no gene *BCL11A* está associado a níveis elevados de HbF. Esta associação foi confirmada em uma amostra de acompanhamento, como mostrado na **Figura 4**, que destaca a distribuição dos níveis de HbF por genótipo.

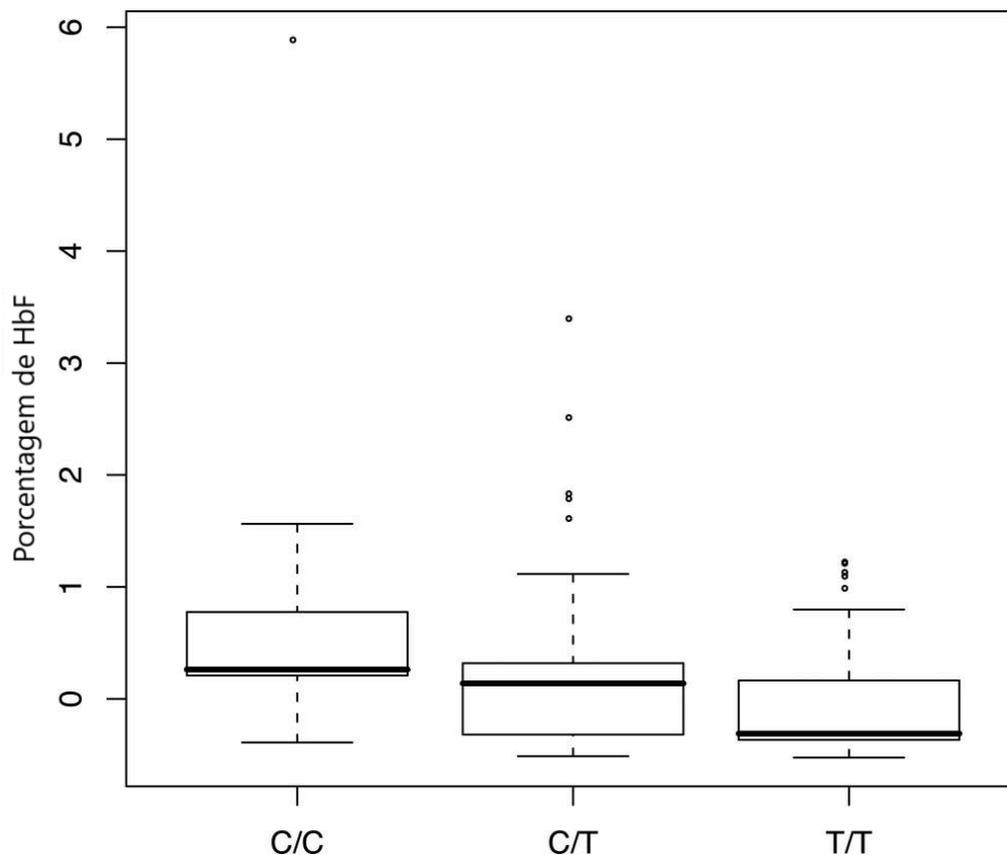


Figura 4 - Associação entre genótipos rs11886868 e proporção de HbF (Uda *et al.*, 2008).

Em seguida, eles exploraram a hipótese de que variantes no locus *BCL11A*, ao influenciar os níveis de HbF, podem modular o fenótipo clínico da β -talassemia. Para isso, eles genotiparam o polimorfismo rs11886868 em 52 pacientes afetados por talassemia intermediária e 74 por talassemia maior, detectados por triagem populacional para β -talassemia. Os pacientes com talassemia maior eram dependentes de transfusão, enquanto aqueles com talassemia intermediária não recebiam ou tinham apenas transfusões esporádicas e eram caracterizados por altos níveis de hemoglobina (quase inteiramente composta por HbF). Os pesquisadores também associaram o alelo C do rs11886868 com os níveis mais altos de HbF (**Figura 4**), ele se mostrou significativamente mais frequente em pacientes com talassemia intermediária (genótipo de valor P $6,49 \times 10^{-06}$). Além disso, Salah *et al.* em 2023 avaliaram 82 crianças egípcias com β -talassemia, genotipadas para esse mesmo polimorfismo no gene *BCL11A* (rs11886868) a genotipagem revelou 19,5% com genótipo CC, 46,3% com genótipo TC e 34,1% com genótipo TT. Crianças com o genótipo TT apresentaram maior gravidade clínica e menor nível de HbF inicial

(média de 24,55%) em comparação com as crianças dos outros grupos. Por outro lado, aquelas com o genótipo CC exibiram um fenótipo mais brando, com maior HbF inicial (média de 90,93%) (**Tabela 7**).

Tabela 7 - Relação dos genótipos do SNP rs11886868 com os níveis médios de HbF nas crianças avaliadas (Adaptado de Salah *et al.*, 2023).

	CC N = 16	TC N = 38	TT N = 28
HbF inicial no diagnóstico (%)	90,93	59,69	24,55

Isso indica que a variante *BCL11A* portadora do alelo “C” rs11886868, ao aumentar os níveis de HbF, pode contribuir para o desenvolvimento de um fenótipo mais brando. Com isso, os estudos destacam o papel crítico do *BCL11A* na regulação dos níveis de HbF. A presença do alelo C do SNP rs11886868 foi associada a um fenótipo menos severo na β -talassemia e um aumento nos níveis de HbF, o que sugere que variantes *BCL11A* podem servir como marcadores prognósticos para a gravidade da doença.

A DNA metiltransferase 1 (DNMT1) é identificada como uma proteína associada a *BCL11A*. Ela é necessária para manter o silenciamento de HbF em células eritroides adultas humanas primárias regulando o silenciamento epigenético da γ -globina humana (Xu *et al.*, 2013). Com isso, Gong *et al.*, realizaram um estudo em 2021 onde investigaram associações entre variantes em DNMT1 e fenótipos em 1142 indivíduos chineses com β -talassemia. Eles identificaram e confirmaram uma nova mutação missense (c.2633G>A, S878F) no domínio DNMT1 por sequenciamento de Sanger, com uma perda prevista de 2 ligações de hidrogênio como elementos estruturais essenciais (**Figura 5**).

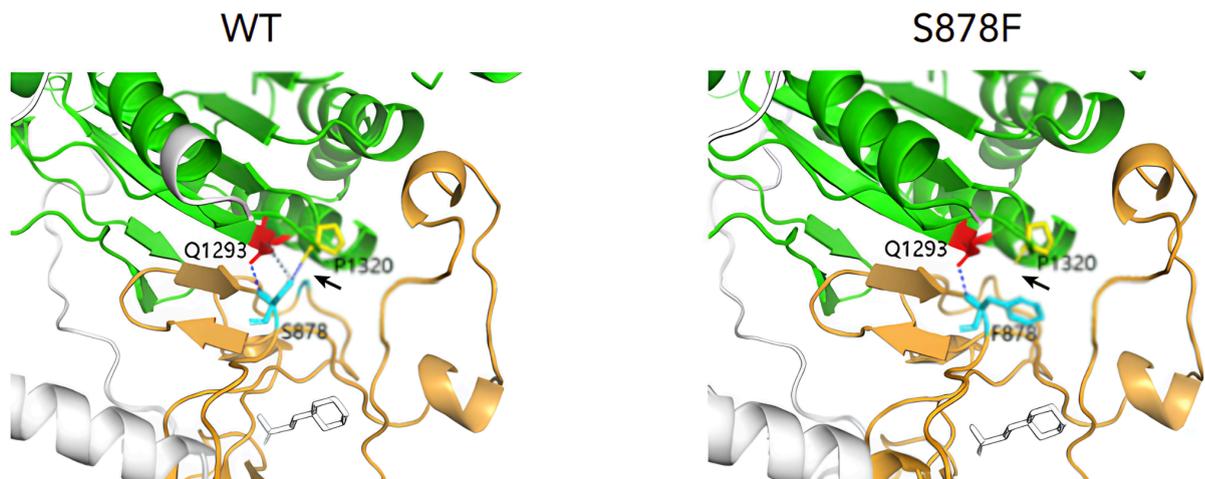


figura 5 - Demonstração estrutural da mutação S878F comparada com a estrutura normal da DNMT1 (WT) com ênfase na perda de duas ligações de hidrogênio na estrutura (Gong *et al.*, 2021).

Os resultados demonstraram que a fosforilação de DNMT1 é anulada pela substituição da serina por fenilalanina na posição 878, resultando em menor estabilidade e perda de atividade catalítica. A mutação S878F também atenuou as interações de DNMT1 com BCL11A, GATA1 e HDAC1/2 e reduziu o recrutamento de DNMT1 para os promotores da γ -globina, levando à desrepressão epigenética da expressão da γ -globina. A mutação também causou hipometilação em seis sítios CpG (regiões específicas do DNA onde uma citosina (C) está seguida por uma guanina (G), ligadas por uma ligação fosfodiéster (fosfato)) no promotor da globina γ , levando à reativação da expressão da globina fetal.

Para validar a função dessa mutação, o gene foi editado utilizando a tecnologia CRISPR-Cas9 em células progenitoras hematopoéticas CD34+ de pacientes e células HuDEP-2. Vários ensaios foram realizados para investigar o impacto da mutação S878F, incluindo imunoprecipitação para analisar interações proteína-proteína, ensaios de metilação de DNA e análises de expressão de globina γ . A equipe também usou ensaios de imunofluorescência para determinar o padrão de células F (células produtoras de HbF).

Os pacientes portadores da mutação S878F apresentaram níveis mais altos de HbF, o que foi associado a uma gravidade clínica reduzida da talassemia. Três

pacientes com a mutação S878F apresentaram níveis elevados de HbF (49,5%, 34,7% e 32,5%, respectivamente), enquanto aqueles sem a mutação exibiram níveis muito mais baixos. A mutação também foi associada a uma menor necessidade de transfusões (**Figura 6 e 7**).

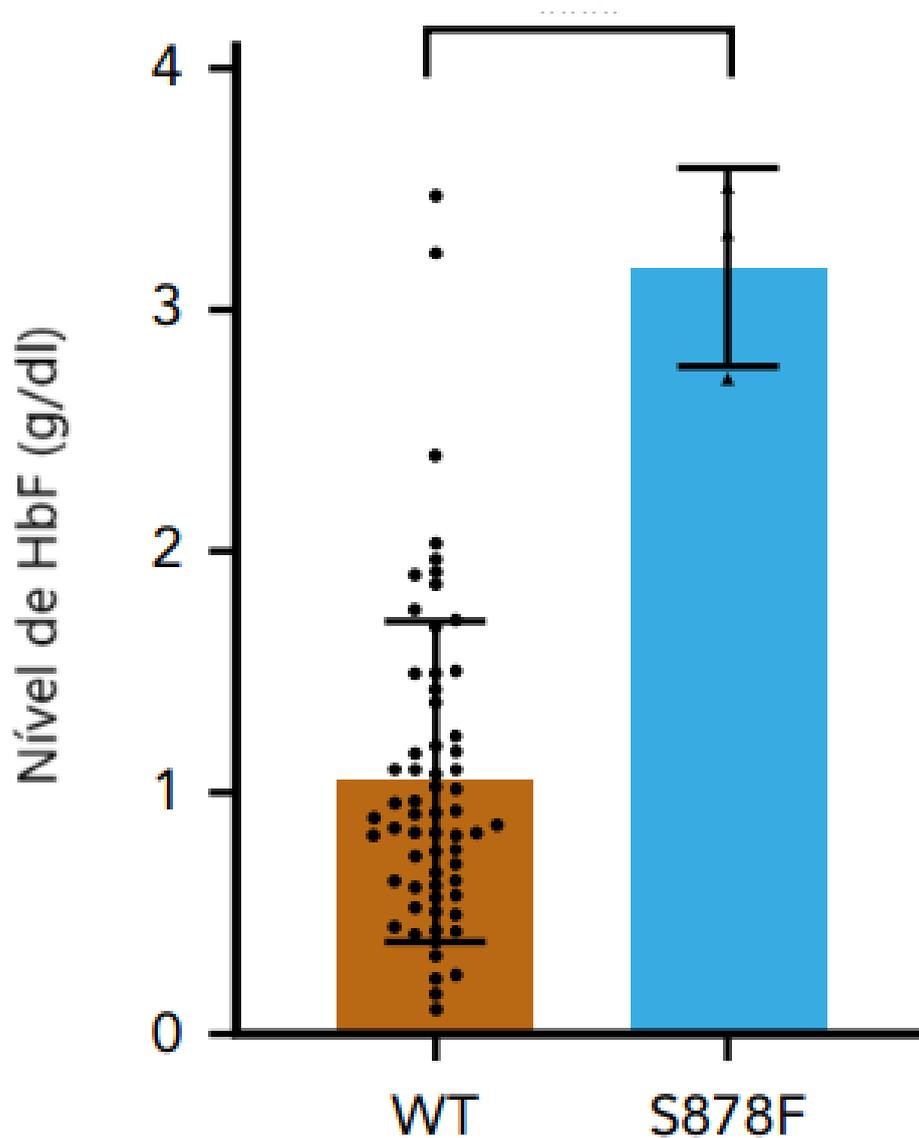


Figura 6 - Relação entre os níveis de hemoglobina fetal dos pacientes com a mutação em comparação com os que não apresentaram a mutação (Adaptado de Gong *et al.*, 2021).

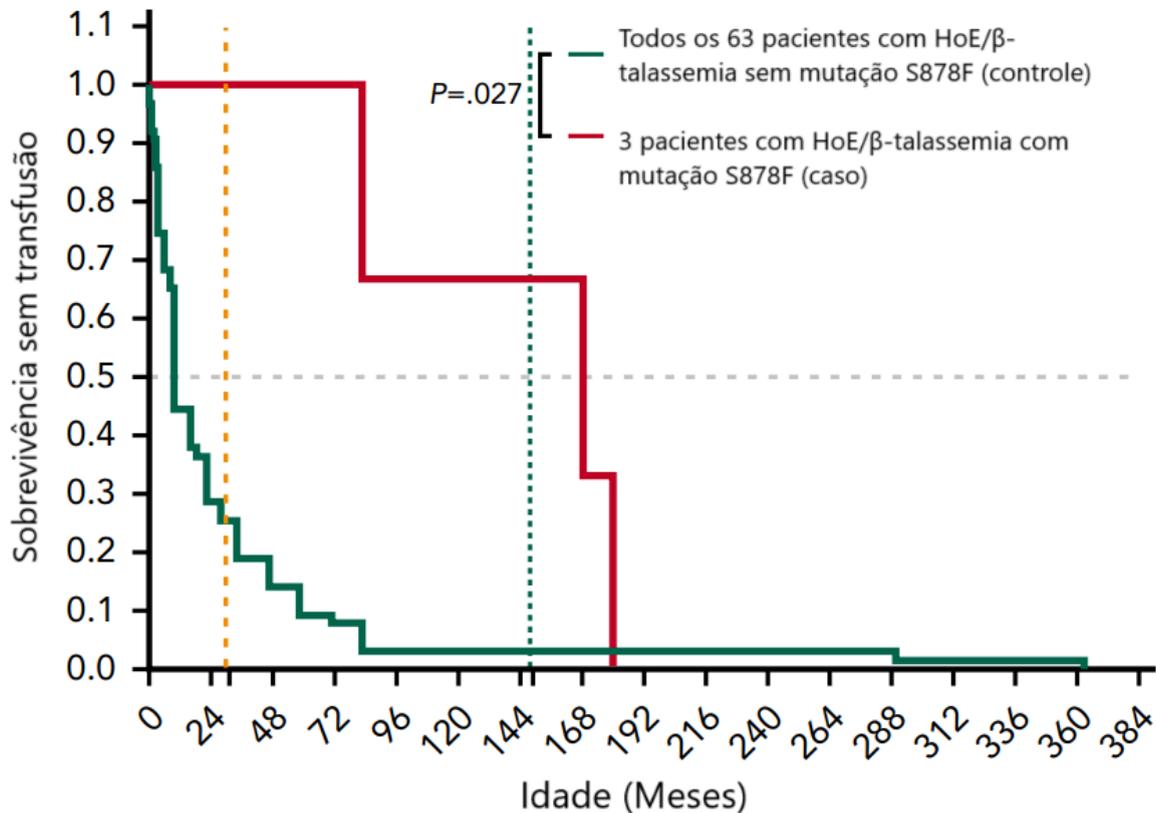


Figura 7 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevivência livre de transfusão entre os dois grupos de pacientes: aqueles com a mutação S878F no gene DNMT1 (em vermelho) e aqueles sem essa mutação (grupo controle, em verde) (Adaptado de Gong *et al.*, 2021).

Assim, o estudo revelou que a mutação S878F no DNMT1 atua como um modificador genético da β -talassemia, aumentando os níveis de HbF por meio da desrepressão epigenética da expressão de globina γ . A mutação não só reduz a ligação de DNMT1 ao promotor da globina γ , mas também afeta suas interações com cofatores epigenéticos importantes, resultando em um aumento na produção de HbF. O estudo também sugere que a mutação S878F pode ser replicada utilizando tecnologias de edição gênica como o CRISPR-Cas9 em células progenitoras hematopoéticas, o que poderia representar uma estratégia terapêutica promissora para a reativação da produção de HbF e, assim, aliviar os sintomas de pacientes com β -talassemia.

Bandyopadhyay *et al.*, em 2005, conduziram um estudo que objetivou investigar mutações gerais na β -globina, herança simultânea de talassemia alfa, um polimorfismo C \rightarrow T em -158 de Ggamma e configuração de um motivo (AT)(x)T(y) em -540 do gene da beta-globina no intuito de relacionar com níveis de HbF. Para isso, 15 pacientes com β -talassemia foram recrutados, onde sete possuíam HbF alta, não necessitando de transfusão e oito possuíam HbF baixa, necessitando de transfusão.

Os resultados obtidos estão descritos na **tabela 8**.

Tabela 8 - Perfil dos pacientes em relação a níveis de HbF, estado da α -Globina, polimorfismo G-158Xmnl, configuração do motivo (AT)(x)T(y) em -540 do gene da beta-globina e mutações no gene da β -globina (adaptado de Bandyopadhyay *et al.*, 2005).

Pacientes	HbF(%)	Estado da α -Globina	G-158Xmnl	-540 β (AT) x T y	Mutação
Grupo A (Não transfundidos)					
A1	52,0	Normal	(+/-)	(AT) ₉ T ₅ (AT) ₈ T ₄	HbE IVS
A2	20,5	Normal	(+/-)	(AT) ₉ T ₅ (AT) ₈ T ₆	HbE IVS
A3	86,0	α 4.2 kb (Het)	(+/+)	(AT) ₉ T ₅ (AT) ₈ T ₅	IVS IVS
A4	86,0	α 3.7 kb (Het)	(+/+)	(AT) ₈ T ₅ (AT) ₈ T ₅	IVS IVS
A5	76,0	Normal	(+/+)	(AT) ₇ T ₇ (AT) ₇ T ₇	Códon30 Códon30
A6	86,0	α 3.7 kb (Het)	(+/-)	(AT) ₈ T ₅ (AT) ₈ T ₅	IVS Unch.
A7	31,8	Normal	(+/-)	(AT) ₉ T ₅ (AT) ₈ T ₄	HbE/IVS HbE/IVS
Grupo B (Transfundidos)					
B1	4,7	Normal	(+/-)	(AT) ₈ T ₇ (AT) ₈ T ₅	HbE IVS
B2	2,6	Normal	(+/-)	(AT) ₉ T ₅ (AT) ₈ T ₅	HbE IVS

B3	11,3	α 3.7 kb (Het)	(+/-)	(AT) ₈ T ₄ (AT) ₁₀ T ₂ (-ATT)	HbE/IVS
B4	2,2	Normal	(+/-)	(AT) ₉ T ₅ (AT) ₈ T ₅	HbE IVS
B5	1,4	Normal	(+/-)	(AT) ₉ T ₅ (AT) ₈ T ₇	HbE IVS
B6	11,7	Normal	(-/-)	(AT) ₉ T ₅ (AT) ₈ T ₅	IVS HbE
B7	8,1	Normal	(+/-)	(AT) ₉ T ₅ (AT) ₈ T ₅	HbE/IVS
B8	11,3	Normal	(-/-)	(AT) ₉ T ₅ (AT) ₇ T ₅	HbE/IVS

No Grupo A, três pacientes tinham co-herança de β -talassemia com HbE. Nesse estudo também foi avaliada a mutação IVS-I nt 5 (G > C), uma mutação pontual que ocorre na posição intrônica número 5 do gene β -globina, substituindo a guanina por citosina. Quatro dos sete pacientes do Grupo A eram homocigotos para a mutação IVS I-5. Além disso, todos os pacientes com E- β talassemia do Grupo B também carregavam essa mutação. O polimorfismo no sítio XmnI (C>T) a -158 no gene γ -globina mostrou estar significativamente associado a níveis mais elevados de HbF, principalmente no Grupo A onde Aproximadamente 71,5% dos cromossomos desse grupo apresentaram o sítio XmnI (+), comparado a apenas 37,5% dos cromossomos no Grupo B. Além disso, a presença de deleções no gene α -globina foi detectada em três pacientes do Grupo A e em um paciente do Grupo B, o que contribuiu para uma condição clínica mais branda. Sete diferentes configurações do motivo (AT)xTy foram identificadas nos cromossomos analisados. A configuração (AT)9T5, encontrada em 28,5% dos cromossomos no Grupo A e 37,5% no Grupo B, não apresentou correlação estatística significativa com os níveis de HbF, sugerindo que esse motivo não influencia diretamente a regulação da HbF.

Portanto, apenas o polimorfismo G-158XmnI no gene γ -globina mostrou significância nos níveis mais altos de HbF dos pacientes estudados.

Em 2018, Hamid *et al.* investigaram se mutações no gene *KLF1* estavam associadas ao aumento de hemoglobina fetal (HbF) em pacientes com β -talassemia

no sul do Irã. Foram analisadas amostras de 7000 indivíduos entre os anos de 2012 e 2017. Dentre essas, 23 indivíduos com níveis elevados de HbF (entre 3% e 95,2%) e 50 indivíduos com níveis normais de HbF (<1,5%) foram selecionados para o estudo. Além disso, foi realizada uma análise do polimorfismo de XmnI no promotor do gene γ -globina, utilizando a técnica de PCR-RFLP.

Os resultados da análise de sequenciamento revelaram uma mutação missense (substituição de aminoácido) no gene *KLF1*, denominada p.Ser102Pro (c.304T>C) (**Figura 8**).

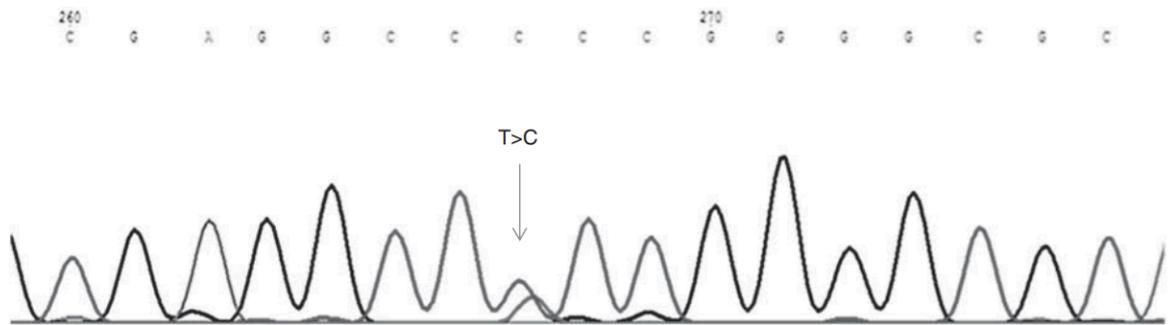


Figura 8 - Sequência do gene *KLF1* mostrando mutação p.Ser102Pro (c.304T>C) no estado heterozigoto (Hamid *et al.*, 2018).

Esta mutação foi detectada em 10 dos 23 casos (43,5%) com aumento de HbF, todos com níveis entre 3,1% e 25,6%. Entre esses, 9 indivíduos apresentaram a mutação em estado heterozigoto, enquanto um era homozigoto (**Tabela 9**).

Tabela 9 - Relação de indivíduos estudados com HbF aumentada, genótipo da mutação p.Ser102Pro (c.304T>C) e o polimorfismo XmnI (Adaptado de Hamid *et al.*, 2018).

Caso	HbF(%)	Genótipo <i>KLF1</i> Ser102Pro	Polimorfismo de XmnI
1	5,7	T/C	-/-
2	3,6	T/C	-/+
3	18,1	T/C	-/+
4	3,5	T/C	-/+
5	3,1	T/C	-/+

6	3,6	T/C	-/+
7	4,5	C/C	-/+
8	4,5	T/C	-/+
9	5,1	T/C	-/+
10	25,6	T/C	-/+
11	16,0	T/T	-/+
12	95,2	T/T	-/+
13	3,0	T/T	-/+
14	93,5	T/T	+/+
15	15,2	T/T	-/+
16	4,1	T/T	+/+
17	24,6	T/T	+/+
18	5,7	T/T	-/+
19	6,1	T/T	+/+
20	3,8	T/T	-/+
21	3,4	T/T	+/+
22	67,0	T/T	-/+
23	68,7	T/T	-/-

A frequência do alelo C foi significativamente correlacionada com os níveis elevados de HbF ($P < 0,05$). Além disso, o polimorfismo de XmnI foi observado em 91,3% dos casos com níveis altos de HbF, indicando uma forte associação com o aumento de HbF. Ademais, nenhuma mutação foi identificada nos 50 indivíduos do grupo controle com níveis normais de HbF, sugerindo que a mutação p.Ser102Pro pode estar associada diretamente ao aumento de HbF.

O estudo foi o primeiro a relatar a mutação p.Ser102Pro (c.304T>C) no gene *KLF1* em pacientes com β -talassemia com níveis elevados de hemoglobina fetal no Irã. A análise estatística sugere uma forte associação entre a mutação p.Ser102Pro e o aumento de HbF. No entanto, os autores destacam que essa mutação não é o único fator responsável pela elevação da HbF, sugerindo que outros fatores reguladores e modificadores também desempenham um papel importante na produção de HbF. Este estudo também confirma que o polimorfismo XmnI é um

marcador genético útil para distinguir entre indivíduos com níveis elevados e normais de HbF.

Em 2017, Hariharan *et al.* realizaram um estudo que investigou uma nova mutação no gene *KLF1* e sua possível relação com o aumento dos níveis de hemoglobina fetal (HbF) em indivíduos com β -talassemia. O gene *KLF1* ativa a transcrição de *BCL11A*, ligando-se a região promotora do gene. A expressão de *BCL11A* reprime a expressão dos genes γ -globina, aumentando concomitantemente a expressão do gene β -globina (Gorgônio, 2022).

A pesquisa foi conduzida em Mumbai, Índia. Para isso, amostras de sangue foram coletadas de uma família composta por três membros: pai, mãe e filha de 6 anos, todos encaminhados para triagem de hemoglobinopatias. Os resultados revelaram a presença de uma mutação nova no gene *KLF1* (códon 211 A→G) tanto na mãe quanto na filha. A mãe apresentava níveis elevados de HbF (8,6%) e heterozigose para a mutação no gene *KLF1*, enquanto a filha, que era homozigota para a mutação no gene β -globina (G→A), apresentava um nível de HbF de 97,7% (Tabela 10).

Tabela 10 - Análise Hematológica e Molecular da Família (Adaptado de Hariharan *et al.*, 2017).

Parâmetro	Pai (35 anos, M)	Mãe (32 anos, F)	Filha (6 anos, F)
RBCs ($10^6/\mu\text{L}$)	6,6	4,3	3,4
Hb (g/dL)	12,6	9,0	7,6
MCV (fL)	59,2	65,3	69,9
MCH (pg)	18,2	21,1	22,2
HbA ₂ (%)	5,5	4,1	1,6
HbF (%)	0,6	8,6	97,7
Genótipo β	Heterozigoto Códon 15 G>A	Heterozigoto Códon 15 G>A	Homozigoto Códon 15 G>A
Genótipo α	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$
Gene <i>KLF1</i>	Normal	Heterozigoto Códon 211 A>G	Heterozigoto Códon 211 A>G
Polimorfismo Xmnl	+/-	+/+	+/-

Genotipagem BCL11A

-rs11886868 (C>T)	CT	CT	CC
-rs4671393 (A>G)	AG	AG	AA
-rs7557939 (A>G)	AG	AG	AG

A mutação identificada (código 211 A→G) (**Figura 9**) resultou na substituição de glutamina por arginina, o que, segundo os softwares PolyPhen 2 e PANTHER, pode ter um efeito danoso sobre a estrutura da proteína. A análise pelo PyMOL mostrou que a interação das proteínas normais e mutantes com os aminoácidos vizinhos era significativamente diferente, sugerindo que a mutação poderia desestabilizar a proteína (**Figura 10**).

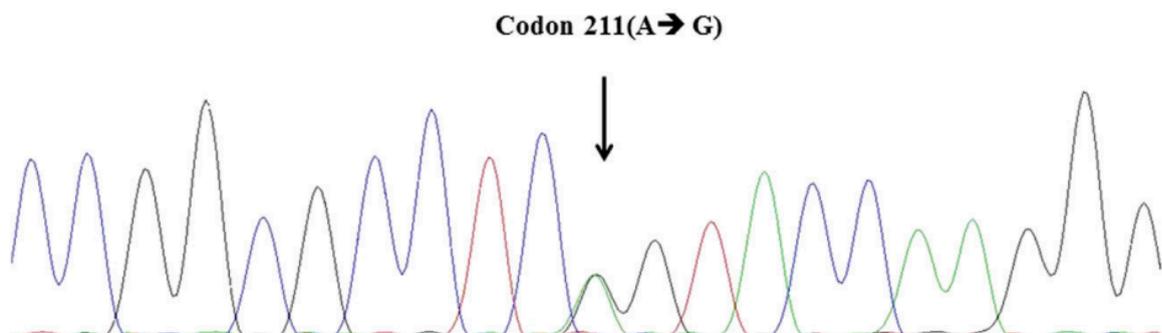


Figura 9 - Sequenciamento automatizado de DNA mostrando a presença de uma nova mutação no gene *KLF1* (Hariharan *et al.*, 2017).

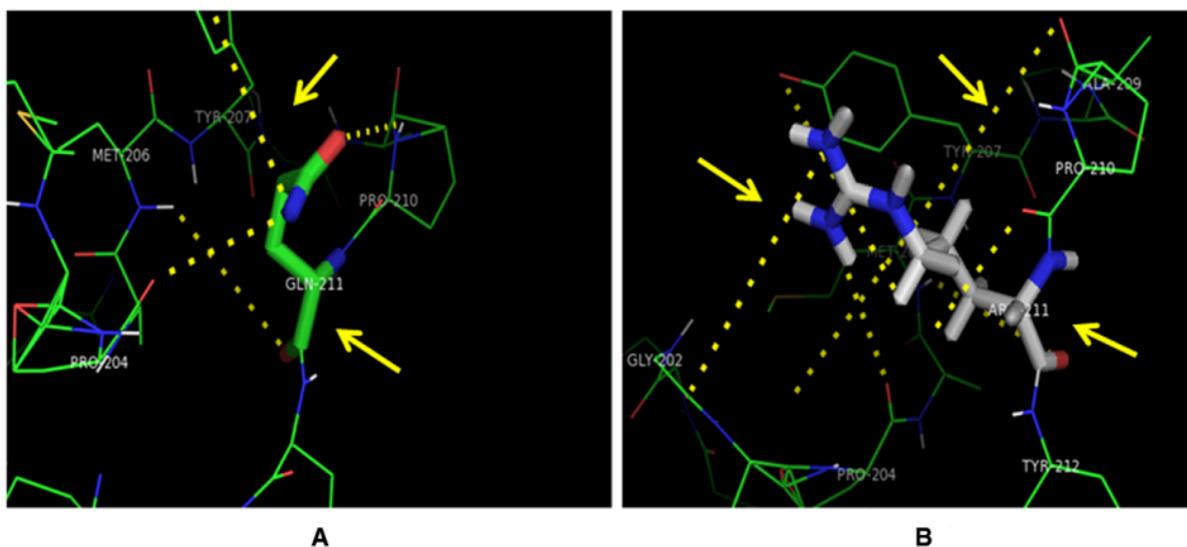


Figura 10 - Representação da proteína *KLF1* normal (A) e mutante (B) e sua interação com os aminoácidos circundantes, usando Software PyMOL. (Hariharan *et al.*, 2017).

Dessa forma, o estudo sugere que a nova mutação no gene *KLF1* identificada pode estar associada ao atraso na troca da hemoglobina fetal para a adulta. Assim, a mutação encontrada parece ter contribuído para o aumento dos níveis de HbF, o que pode ter um papel na mitigação dos sintomas clínicos da β -talassemia na criança, que não havia recebido transfusões até então.

Como a HbF elevada é benéfica na β -talassemia, Liu *et al.* em 2014, levantaram a hipótese de que algumas associações podem existir entre mutações *KLF1* e β -talassemia em regiões com alta prevalência de talassemia e realizaram uma investigação da incidência e do espectro de mutações *KLF1* em uma população chinesa.

Para isso, foram analisados 3918 indivíduos, divididos em quatro grupos: indivíduos não portadores de β -talassemia (coorte A), indivíduos portadores de β -talassemia heterozigotos (coorte B) e indivíduos portadores de β -talassemia homozigotos ou heterozigotos compostos (coorte C). Um subconjunto de indivíduos (coorte D) também foi selecionado de uma grande população aleatória de Guangxi rastreada para níveis elevados de HbA₂ e HbF (**Figura 11**).

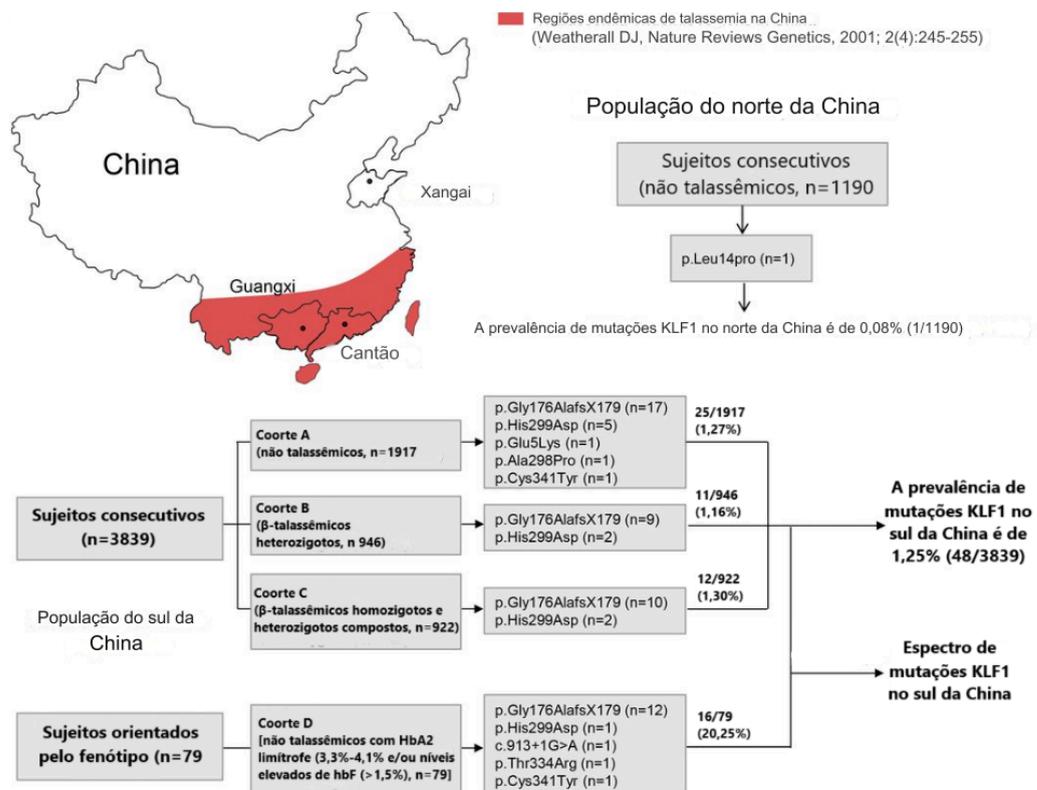


Figura 11 - Descrição dos grupos de estudo no sul e norte da China, indicando a prevalência das mutações KLF1 em diferentes regiões (Liu *et al.*, 2014).

O estudo encontrou que as mutações no gene *KLF1* são mais prevalentes em regiões da China onde a talassemia é endêmica, como no sul (1,25%) em comparação com o norte (0,08%). As mutações no *KLF1* aumentam a produção de hemoglobina fetal (HbF) e hemoglobina A₂ (HbA₂), o que pode aliviar a gravidade clínica da β -talassemia. Essa descoberta demonstra que as mutações *KLF1* têm uma prevalência muito maior na presença de talassemia. A comparação da frequência de mutações *KLF1* entre as 3 coortes revelou que a frequência é de 1,27% (25/1971) na coorte A, 1,16% (11/946) na coorte B e 1,30% (12/922) na coorte C, respectivamente (**Figura 11**). A análise estatística mostrou que não houve diferenças estatisticamente significativas entre esses 3 grupos de amostra ($P = 0,959$), o que implica que a prevalência mais alta de mutação *KLF1* é um fenômeno comum em uma população do sul da China.

Em relação às variantes encontradas, foram identificadas sete variantes funcionais do *KLF1*, incluindo quatro já conhecidas (p.Gly176AlafsX179, p.Ala298Pro, p.Thr334Arg e c.913+1G>A) e três novas (p.His299Asp, p.Cys341Tyr, e p.Glu5Lys). A mutação p.Gly176AlafsX179 e p.His299Asp foram as mais comuns, representando 90,6% das mutações encontradas (**Figura 11**). A mutação p.Gly176AlafsX179 trata-se de uma mutação frameshift (ocorre quando há a inserção ou deleção de um ou mais nucleotídeos no DNA, que não seja múltiplo de três). A mutação c.913+1G>A trata-se de uma mutação splicing e as 5 demais são mutações missense.

Foi descoberto que a coexistência do traço de β -talassemia e mutações *KLF1* resulta em níveis mais altos de HbA₂, de mais de 6,5% ($n = 17, 6,47 \pm 0,81\%$), implicando efeitos aditivos desses 2 fatores na expressão do gene δ -globina. Além disso, um aumento altamente variável nos níveis de HbF ($n = 17, 7,67 \pm 4,11\%$) foi observado em indivíduos com co-herança de mutações *KLF1* no contexto do traço de β -talassemia (**Figura 12**)

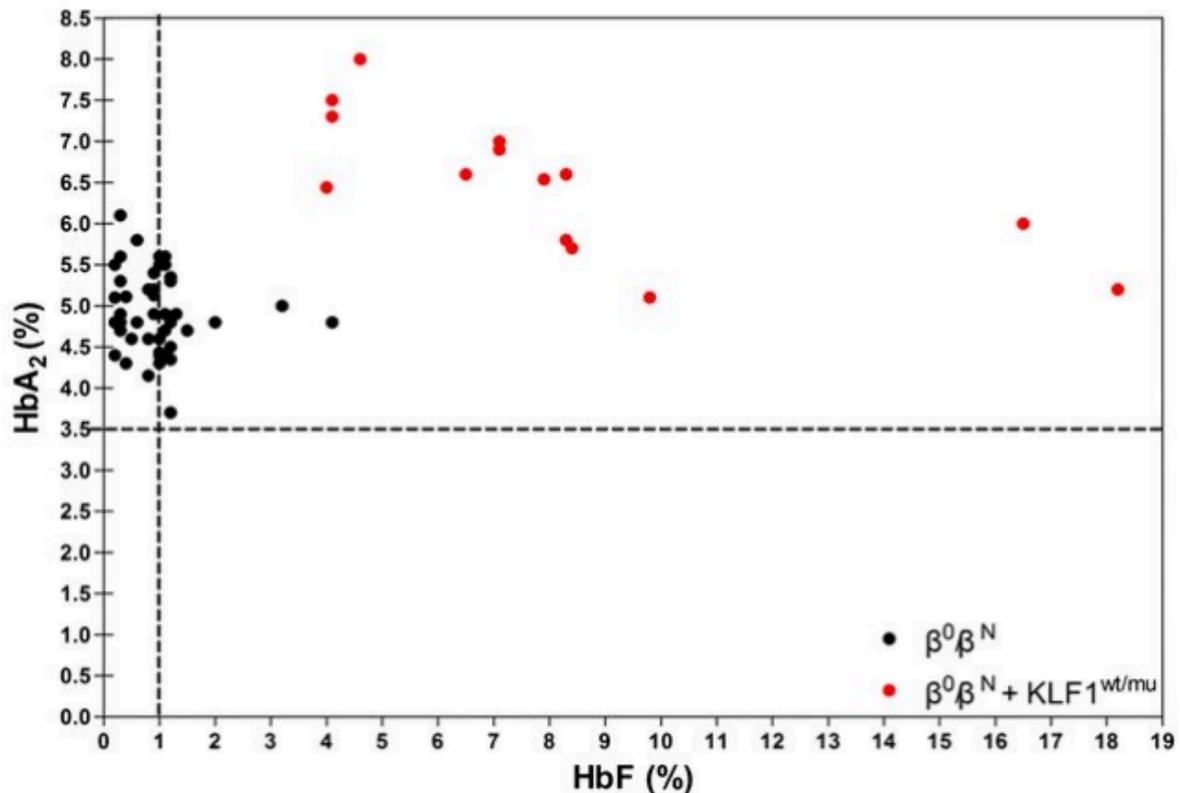


Figura 12 - Níveis de HbA₂ e HbF em heterozigotos de β -talassemia com e sem mutações no KLF1 (Adaptado de Liu *et al.*, 2014).

Dessa forma, essas descobertas sugerem que as mutações *de KLF1* ocorrem seletivamente na presença de β -talassemia para aumentar a produção de HbF, o que por sua vez melhora a gravidade clínica da β -talassemia.

Ainda em relação ao gene *KLF1*, um estudo familiar foi realizado por Fanis *et al.* em 2019, onde amostras de sangue de uma família cipriota, na qual alguns membros exibiram níveis anormalmente altos de HbF, foram analisadas. Após as análises, foram identificados dois indivíduos que eram homozigotos para a mutação β -talassemia major *IVS1-110; HBB: c.93-21G>A*, mas eram fenotipicamente saudáveis, com níveis quase normais de hemoglobina total e níveis extremamente altos de hemoglobina F (HbF) (63–66,2%). Curiosamente, os dois indivíduos (II.1 e II.2) eram irmãos (**Figura 13a**), enquanto dois membros adicionais da mesma família (I.1 e III.2) exibiam altos níveis de HbF.

Todos os membros da família foram testados para mutações nos genes *HBA1*, *HBA2* e *HBB*. O sequenciamento do gene *KLF1* revelou a mutação c.968C>T,

que leva à troca de serina por leucina na posição 323 (p.Ser323Leu) do *KLF1* (Figura 13b).

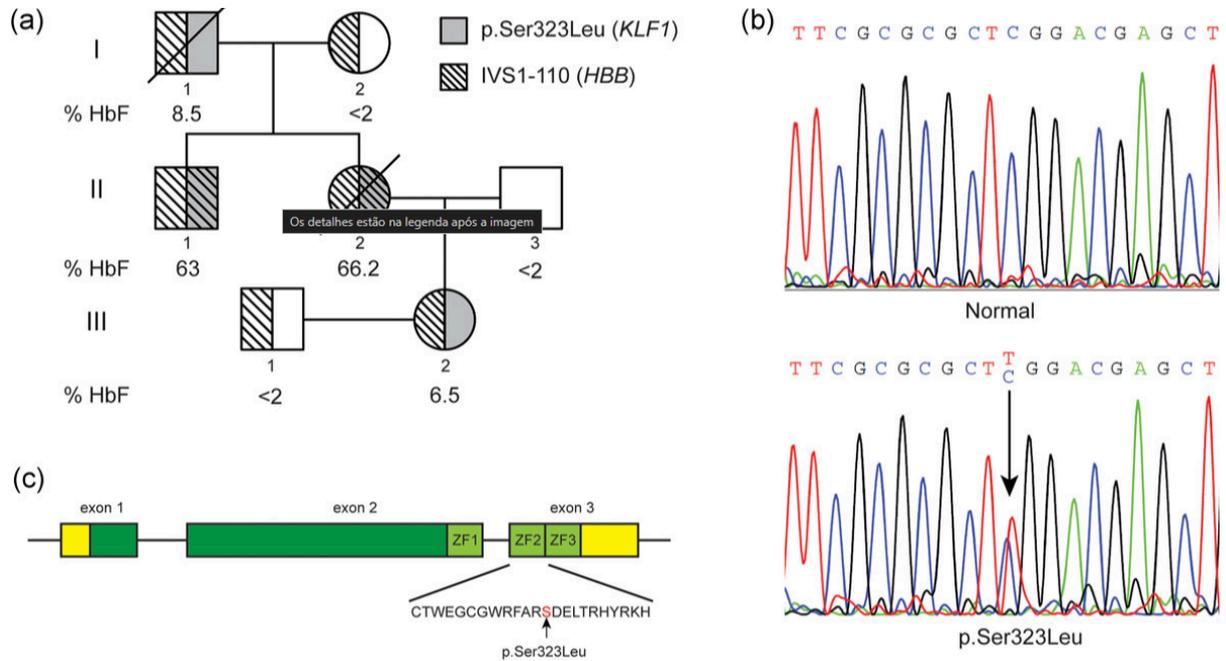


Figura 13 - (a) Linhagem da família com mutações *KLF1*:p.Ser323Leu e *IVS1-110*; *HBB*: c.93–21G>A . O sombreamento cinza indica a presença da mutação *KLF1*:p.Ser323Leu e as linhas tracejadas indicam a presença da mutação *IVS1-110*; *HBB*: c.93–21G>A . Os níveis de HbF são indicados abaixo de cada indivíduo. (b) Parte dos eletroferógrafos de sequenciamento do gene *KLF1* mostrando a nova mutação heterozigótica (p.Ser323Leu) detectada em indivíduos com β -talassemia genotípica e HbF alta. (c) Representação esquemática da proteína *KLF1*. As regiões não traduzidas são indicadas com a cor amarela. A sequência de aminoácidos do segundo dedo de zinco é mostrada, com a localização da mutação p.Ser323Leu indicada (Fanis, *et al.*, 2019).

A mutação p.Ser323Leu identificada em estado heterozigoto nos dois irmãos parece atenuar a severidade do fenótipo da β -talassemia maior, uma vez que esses são homozigotos para uma mutação grave na globina beta (*IVS1-110*; *HBB*: c.93-21G>A), mas não necessitam de transfusões de sangue. Além disso, outros membros da família que também carregam essa mutação no *KLF1* apresentaram níveis elevados de hemoglobina fetal (HbF) (Figura 13a).

A mutação p.Ser323Leu mostrou efeitos pronunciados em comparação com mutações previamente relatadas em *KLF1*, sugerindo que ela possa aumentar a produção de γ -globina e, assim, melhorar a gravidade clínica associada à β -talassemia. Embora o mecanismo exato ainda precise ser esclarecido, estudos

funcionais indicam que a mutação afeta a capacidade de ligação do *KLF1* ao DNA, o que pode explicar o aumento nos níveis de HbF observados. A pesquisa sugere que essa mutação deve ser incorporada a programas de triagem e aconselhamento genético para casais portadores de β -talassemia.

5 CONCLUSÃO

Diante disso, ficou claro o papel benéfico de variações em genes relacionados à produção e regulação da hemoglobina fetal em pacientes β -talassêmicos, com destaque para variações nos genes *KLF1* e *BCL11A* que são frequentemente associadas a elevação dos níveis de HbF, oferecendo-lhes uma vantagem clínica perante a doença. Além disso, esses estudos demonstraram que variações que aumentam a hemoglobina fetal em pacientes β -talassêmicos servem não só como moduladores da gravidade da doença, mas também como alvos terapêuticos promissores. Contudo, estudos adicionais são necessários para melhor compreensão dessas variações, além de novas descobertas.

REFERÊNCIAS

AMATO, A. et al. Interpreting elevated fetal hemoglobin in pathology and health at the basic laboratory level: new and known γ -gene mutations associated with hereditary persistence of fetal hemoglobin. **International journal of laboratory hematology**, v. 36, n. 1, p. 13-19, 2014.

BANDYOPADHYAY, Sanmay et al. Two β -globin cluster-linked polymorphic loci in thalassemia patients of variable levels of fetal hemoglobin. **European journal of haematology**, v. 75, n. 1, p. 47-53, 2005.

BANK, Arthur. Regulation of human fetal hemoglobin: new players, new complexities. **Blood**, v. 107, n. 2, p. 435-443, 2006.

BAO, Xiuqin et al. Epigenetic inactivation of ERF reactivates γ -globin expression in β -thalassemia. **The American Journal of Human Genetics**, v. 108, n. 4, p. 709-721, 2021.

BJURSTRÖM, Carmen F. et al. Reactivating fetal hemoglobin expression in human adult erythroblasts through BCL11A knockdown using targeted endonucleases. **Molecular therapy-nucleic acids**, v. 5, 2016.

BORG, Joseph et al. Haploinsufficiency for the erythroid transcription factor KLF1 causes hereditary persistence of fetal hemoglobin. **Nature genetics**, v. 42, n. 9, p. 801-805, 2010.

BORGNA-PIGNATTI, Caterina; GAMBERINI, Maria Rita. Complications of thalassemia major and their treatment. **Expert review of hematology**, v. 4, n. 3, p. 353-366, 2011.

CAO, Antonio; MOI, Paolo. Regulation of the globin genes. **Pediatric research**, v. 51, n. 4, p. 415-421, 2002.

CONRAN, N.; FERTRIN, K. Y. **Tratado de Hematologia**. 1aEd. São Paulo, Rio de FANIS, Pavlos et al. A novel mutation in the erythroid transcription factor KLF1 is likely responsible for ameliorating β -thalassemia major. **Human mutation**, v. 40, n. 10, p. 1768-1780, 2019.

FINOTTI, Alessia et al. Recent trends in the gene therapy of β -thalassemia. **Journal of blood medicine**, p. 69-85, 2015.

FLINT, Jonathan et al. 8 the population genetics of the haemoglobinopathies. **Bailliere's clinical haematology**, v. 6, n. 1, p. 215-262, 1993.

FUCHAROEN, Suthat et al. A randomized phase I/II trial of HQK-1001, an oral fetal globin gene inducer, in β -thalassaemia intermedia and H b E/ β -thalassaemia. **British journal of haematology**, v. 161, n. 4, p. 587-593, 2013.

GALANELLO, Renzo; ORIGA, Raffaella. Beta-thalassemia. **Orphanet journal of rare diseases**, v. 5, p. 1-15, 2010.

GIARDINE, B; Borg J; Viennas E; Pavlidis C; Moradkhani K; Joly P; Bartsakoulia M; Riemer C; Miller W; Tzimas G; Wajcman H; Hardison RC; Patrinos GP. **Atualizações do banco de dados HbVar de variantes de hemoglobina humana e mutações de talassemia**. 2014. Disponível em: <https://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/counter>. Acesso em: 12 ago. 2024.

GLENTHØJ, Andreas. Arvelige erytrocytsygdomme. **Ugeskr Læger**, v. 183, p. V01210080, 2021.

GONG, Yi et al. A natural DNMT1 mutation elevates the fetal hemoglobin level via epigenetic derepression of the γ -globin gene in β -thalassemia. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 137, n. 12, p. 1652-1657, 2021.

GORGÔNIO, Júlia Costa. **Influência dos moduladores genéticos nos níveis de hemoglobina fetal na anemia falciforme: revisão literária**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

GREENE, Dina N. et al. Advances in detection of hemoglobinopathies. **Clinica chimica acta**, v. 439, p. 50-57, 2015.

GUDA, Swaroopa et al. miRNA-embedded shRNAs for lineage-specific BCL11A knockdown and hemoglobin F induction. **Molecular Therapy**, v. 23, n. 9, p. 1465-1474, 2015.

GUERRA, Amaliris et al. Emerging therapies. **Hematology/Oncology Clinics**, v. 32, n. 2, p. 343-352, 2018.

HAMID, Mohammad et al. Mutation screening of the Krüppel-like factor 1 gene in individuals with increased fetal hemoglobin referred for hemoglobinopathy investigation in south of Iran. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 40, n. 3, p. 192-195, 2018.

HARIHARAN, Priya et al. Does the novel KLF1 gene mutation lead to a delay in fetal hemoglobin switch?. **Annals of Human Genetics**, v. 81, n. 3, p. 125-128, 2017.

HARIHARAN, Priya; NADKARNI, Anita. Insight of fetal to adult hemoglobin switch: genetic modulators and therapeutic targets. **Blood Reviews**, v. 49, p. 100823, 2021. Janeiro, Belo Horizonte. EDITORA ATHENEU, 2013. p. 199-225.

JU, Jun Yi; ZHAO, Quan. Regulation of γ -globin gene expression and its clinical applications. **Yi Chuan= Hereditas**, v. 40, n. 6, p. 429-444, 2018.

KOHNE, Elisabeth. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 108, n. 31-32, p. 532, 2011.

LANGER, Arielle L. **Beta-thalassemia**. 2021.

LIU, Dun et al. KLF1 mutations are relatively more common in a thalassemia endemic region and ameliorate the severity of β -thalassemia. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 124, n. 5, p. 803-811, 2014.

MAMAS, Thalia et al. Hemoglobinopathies and preimplantation diagnostics. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 44, p. 21-27, 2022.

MARTYN, Gabriella E. et al. A natural regulatory mutation in the proximal promoter elevates fetal globin expression by creating a de novo GATA1 site. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 133, n. 8, p. 852-856, 2019.

NAOUM, P; Naoum, F. **Hemoglobinas Normais**.2013. Disponível em: www.hemoglobinopatias.com.br/hb-normais/intro.htm. Acesso em: 05 de Maio de 2024.

NAOUM, P; Naoum, F. **Hemoglobinopatias**. Beta talassemia. 2013. Disponível em: <http://www.hemoglobinopatias.com.br/talasseмииs/tal-beta.htm> . Acesso em: 27 de Maio de 2024

PATEL, Siris et al. Inheritance of hereditary persistence of fetal haemoglobin (HPFH) in a family of Western Odisha, India. **Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR**, v. 9, n. 9, p. OD09, 2015.

PAYEN, Emmanuel et al. Lentivirus vectors in β -thalassemia. In: **Methods in Enzymology**. Academic Press, 2012. p. 109-124.

PERRIMOND, H. Beta-thalassemia: clinical manifestations. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique (1990)**, v. 94, n. 2, p. 92-94, 2001.

PHILIPSEN, Sjaak. Molecular control of hemoglobin switching. In: **18th Congress of the European Hematology Association**. 2013.

Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 105, n. 5, p. 1620-1625, 2008.

RUND, Deborah; RACHMILEWITZ, Eliezer. β -Thalassemia. **New England Journal of Medicine**, v. 353, n. 11, p. 1135-1146, 2005.

SADELAIN, Michel et al. Progress Toward the Genetic Treatment of the β -Thalassemias. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1054, n. 1, p. 78-91, 2005.

SALAH, Nouran Y. et al. BCL11A Polymorphism in Egyptian Children with β -Thalassemia: Relation to Phenotypic Heterogeneity. **Journal of Pediatric Genetics**, v. 12, n. 01, p. 016-022, 2023.

SALAH, Nouran Y. et al. BCL11A Polymorphism in Egyptian Children with β -Thalassemia: Relation to Phenotypic Heterogeneity. **Journal of Pediatric Genetics**, v. 12, n. 01, p. 016-022, 2023.

SHARMA, Dharmesh Chandra et al. Hereditary persistence of fetal hemoglobin. **Asian Journal of Transfusion Science**, v. 14, n. 2, p. 185-186, 2020.

SHAUKAT, Irfan et al. Blessing in disguise; a case of Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin. **Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives**, v. 8, n. 6, p. 380-381, 2018.

SILVA JR, W. A. **Hemoglobinopatias**. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/6668366/mod_resource/content/1/Hemoglobiopatias.pdf. Acesso em: 12 ago. 2024.

SRIPICHAI, Orapan; FUCHAROEN, Suthat. Fetal hemoglobin regulation in β -thalassemia: heterogeneity, modifiers and therapeutic approaches. **Expert review of hematology**, v. 9, n. 12, p. 1129-1137, 2016.

STARLARD-DAVENPORT, Athena; FITZGERALD, Ashley; PACE, Betty S. Exploring epigenetic and microRNA approaches for γ -globin gene regulation. **Experimental Biology and Medicine**, v. 246, n. 22, p. 2347-2357, 2021.

STEINBERG, Martin H. Fetal hemoglobin in β hemoglobinopathies: Is enough too much?. **American Journal of Hematology**, v. 97, n. 6, p. 676-678, 2022.

TALLACK, Michael R.; PERKINS, Andrew C. KLF1 directly coordinates almost all aspects of terminal erythroid differentiation. *IUBMB life*, v. 62, n. 12, p. 886-890, 2010.

TANIGUTI, Nathalia. **Conheça um pouco mais sobre a Beta-Talassemia**. 2020. Disponível em: <https://testedabochechinha.com.br/o-que-e-talassemia/>. Acesso em: 18 ago. 2024.

THEIN, Swee Lay. Genetic modifiers of beta-thalassemia. **Haematologica**, v. 90, n. 5, p. 649-660, 2005.

TRIPATHI, Poonam et al. Impact of genetic polymorphisms in modifier genes in determining fetal hemoglobin levels in beta-thalassemia. **Thalassemia Reports**, v. 13, n. 1, p. 85-112, 2023.

UDA, Manuela et al. Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of β -thalassemia.

VENKATESAN, Vigneshwaran et al. Manipulation of developmental gamma-globin gene expression: an approach for healing hemoglobinopathies. **Molecular and Cellular Biology**, v. 41, n. 1, p. e00253-20, 2021.

XU, Jian et al. Corepressor-dependent silencing of fetal hemoglobin expression by BCL11A. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 16, p. 6518-6523, 2013.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. Anemia Falciforme. COSTA, F. F.;