

**CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO**

**Biomedicina**

**Felipe de Oliveira Machado**

**Júlia Dimovici Krul**

**ANEMIA FALCIFORME: ASPECTOS MOLECULARES E PERSPECTIVAS NA  
EDIÇÃO GÊNICA POR CRISPR-CAS9**

**São Paulo**

**2022**

**Felipe de Oliveira Machado**

**Júlia Dimovici Krul**

**ANEMIA FALCIFORME: ASPECTOS MOLECULARES E PERSPECTIVAS NA  
EDIÇÃO GÊNICA POR CRISPR-CAS9**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Profa. Msc. Patrícia Aparecida Ferreira de Oliveira, como requisito parcial para obtenção do título de biomédico.

**São Paulo**

**2022**

### **Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo**

**Machado, Felipe de Oliveira**

Anemia falciforme: aspectos moleculares e perspectivas na edição gênica por CRISPR-CAS9 / Felipe de Oliveira Machado, Júlia Dimovici Krul. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2022.

33 p.

Orientação de Patrícia Aparecida Ferreira de Oliveira.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação),  
Centro Universitário São Camilo, 2022.

1. Anemia falciforme 2. Edição de genes 3. Haplótipos 4.  
Repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente  
espaçadas I. Krul, Júlia Dimovici II. Oliveira, Patrícia Aparecida  
Ferreira de III. Centro Universitário São Camilo IV. Título

CDD: 616.152

## LISTA DE SIGLAS

AF	Anemia Falciforme
AVE	Acidente Vascular Encefálico
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
Hb	Hemoglobina
HbS	Hemoglobina S
STA	Síndrome Torácica Aguda
SciELO	<i>Scientific Eletronic Library Online</i>
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
BIREME	Biblioteca Regional de Medicina
HbF	Hemoglobina Fetal
Ben	Benin
Bantu	CAR
Sen	Senegal
HU	Hidroxiureia
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
DF	Doença Falciforme
RR	Ribonucleotídeo Redutase
TCTH	Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
DECH	Doença de Enxerto Contra o Hospedeiro

crRNA	CRISPR- <i>derived</i> RNA
tracrRNA	<i>Trans-activating</i> RNA
sgRNA	<i>Single Guide</i> RNA
NHEJ	Junção de Pontas Não Homólogas
HDR	Reparo Direcionado por Homologia
CTH	Células-Tronco Hematopoiéticas

**Felipe de Oliveira Machado**

**Júlia Dimovici Krul**

**ANEMIA FALCIFORME: ASPECTOS MOLECULARES E PERSPECTIVAS NA  
EDIÇÃO GÊNICA POR CRISPR-CAS9**

**São Paulo, 10 de Novembro de 2022**

---

**Professor Orientador: Profa. MSc. Patrícia Aparecida Ferreira de Oliveira**

---

**Professor Examinador: Prof. Dr. Fábio Mitsuo Lima**

---

**Professor Examinador: Profa. Dra. Cecília Salete de Alencar**

**São Paulo**

**2022**

## RESUMO

Anemia falciforme é uma condição que afeta cerca de 60.000 a 100.000 pessoas no Brasil, e é a hemoglobinopatia mais prevalente no mundo todo. Surge em decorrência de uma mutação genética que faz com que haja alteração nas subunidades da hemoglobina (Hb), que desencadeia a formação da hemoglobina S (HbS). A hemoglobina é uma proteína presente nas hemácias e tem como função o transporte de O<sub>2</sub> para o organismo. É composta por quatro subunidades divididas em dois pares, um de cadeias do tipo alfa e um de cadeias não alfa. A substituição de uma base nitrogenada timina por adenina (GTT a GAT) no cromossomo 11 do DNA acarretará uma troca na transcrição, ao invés de transcrever um ácido glutâmico, será transcrita uma valina, o que levará à produção da hemoglobina S. O objetivo dessa revisão bibliográfica é apurar os aspectos moleculares e fisiopatológicos da anemia falciforme e evidenciar um tratamento alternativo para essa doença através da técnica de edição gênica CRISPR-Cas9, comparando e expondo suas vantagens sobre os tratamentos utilizados atualmente. Nos últimos 30 anos foram realizados inúmeros estudos no âmbito de biologia molecular, sobre terapia gênica para o tratamento da anemia falciforme, e uma vertente da terapia gênica é a edição gênica que consiste na substituição de uma região mutada do genoma por uma sequência original (normal) utilizando-se uma variedade de procedimentos, nos quais a nuclease, que é uma enzima capaz de quebrar as ligações entre os nucleotídeos atua, em uma sequência específica do DNA para alterá-la. A grande quantidade de pesquisas e estudos sobre o mecanismo molecular dos eventos fisiopatológicos da anemia falciforme tem possibilitado o surgimento de novos tratamentos curativos que futuramente poderão ser implantados como tratamentos mais eficazes e viáveis em relação aos atuais.

Palavras-chave: Anemia Falciforme; Edição Gênica; Haplótipo; Aspectos Moleculares, CRISPR-Cas9.

## ABSTRACT

Sickle cell anemia is a condition that affects around 60,000 to 100,000 people in Brazil, and it is the most prevalent hemoglobinopathy worldwide. It arises as a result of a genetic mutation that causes an alteration in the subunits of hemoglobin (Hb), which triggers the formation of hemoglobin S (HbS). Hemoglobin is a protein present in red blood cells and its function is to transport O<sub>2</sub> to the body. It is composed of four subunits divided into two pairs, one of alpha-type chains and one of non-alpha chains. The substitution of a nitrogenous base thymine for adenine (GTT to GAT) in chromosome 11 of the DNA will cause an exchange in the transcription, instead of transcribing a glutamic acid, a valine will be transcribed, which will lead to the production of hemoglobin S. The aim of this literature review is to ascertain the molecular and pathophysiological aspects of sickle cell anemia and to highlight an alternative treatment for this disease through gene therapy, comparing and exposing its advantages over the treatments currently used. In the last 30 years, numerous studies have been carried out in the field of molecular biology, on gene therapy for the treatment of sickle cell anemia, and one aspect of gene therapy is gene editing, which consists of replacing a mutated region of the genome with an original sequence (normal) using a variety of procedures, in which the nuclease, which is an enzyme capable of breaking the bonds between nucleotides, acts on a specific DNA sequence to change it. The large amount of research and studies on the molecular mechanism of the pathophysiological events of sickle cell anemia has enabled the emergence of new curative treatments that in the future may be implemented as more effective and viable treatments compared to current ones.

Keywords: Sickle Cell Anemia; Gene Editing; Haplotype; Molecular Aspect; CRISP-Cas9.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 OBJETIVO .....</b>	<b>10</b>
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>11</b>
<b>4 ANEMIA FALCIFORME.....</b>	<b>12</b>
4.1 ANEMIA FALCIFORME NO BRASIL .....	12
4.2 ASPECTOS MOLECULARES DA DOENÇA .....	13
4.3 HAPLÓTIPOS .....	16
4.4 TALASSEMIAS .....	18
<b>5 TRATAMENTOS UTILIZADOS ATUALMENTE.....</b>	<b>18</b>
5.1 HIDROXIUREIA .....	18
5.2 TRANSFUSÃO DE HEMÁCIAS .....	21
5.3 TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS .....	21
<b>5.3.1 Indicações.....</b>	<b>22</b>
<b>5.3.2 Fontes de células-tronco.....</b>	<b>22</b>
<b>5.3.3 Tipos de TCTH.....</b>	<b>22</b>
5.4 TERAPIA GÊNICA E SEUS BENEFÍCIOS .....	23
<b>5.4.1 Edição gênica CRISPR-CAS9.....</b>	<b>23</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>27</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A doença falciforme é uma hemoglobinopatia hereditária de fenótipos SS, SC, S/beta-talassemia e SD, dependendo da hemoglobina variante com que se combinou, além é claro, da clássica combinação AS; mas o termo anemia falciforme refere-se ao fenótipo SS. A hemoglobina alterada recebe o nome HbS por referência ao termo em inglês *sickle* (foice em português) (ANVISA, 2002). A manifestação clínica da doença depende de alguns processos físico-químicos que desencadeiam sintomas em pacientes com anemia falciforme. A HbS ao sofrer desoxigenação, interage de forma hidrofóbica com suas moléculas adjacentes, e essas se agregam formando estruturas em fibras que se enovelam entre si, formando um eixo axial no interior da hemácia denominados polímeros, que podem alterar o formato da membrana celular, deixando-a em forma de foice (PITOMBEIRA E NETO, 2003). Hemácias falcizadas podem causar vaso-oclusão por obstruírem os vasos e impedir o fluxo sanguíneo, o que pode causar diversas alterações no organismo e uma possível isquemia. As manifestações clínicas podem variar de casos em que não existem sintomas a casos graves de vaso-oclusão e isquemia que pode gerar um dano agudo ou crônico nos órgãos. Pacientes com o fenótipo HbSS possuem níveis de hemoglobina total baixos ao nascimento e só irão estabilizar com três a seis meses de vida e diminuem novamente até os quinze meses de vida. A vaso-oclusão é o processo agudo mais comum em pacientes com anemia falciforme com mais de dois anos de idade e é o responsável pela maior parte das internações hospitalares; pode variar entre processos de dor aguda extrema ou moderada e pode afetar ossos, região lombar, região torácica e o abdome. Podem ocorrer ainda, processos de Síndrome Torácica Aguda (STA), anemia aplástica aguda, sequestro esplênico, acidente vascular encefálico (AVE) e necrose de diversos órgãos; esses pacientes podem apresentar baixa imunidade pelo "ataque" ao baço, deixando-os mais suscetíveis a infecções bacterianas (ANVISA, 2002).

Entretanto, os quadros clínicos variam entre pacientes, existem pacientes HbSS que apresentam diversas crises dolorosas de vaso-oclusão e podem ter morte precoce enquanto há casos em que quase não existe crise vaso-oclusiva e os pacientes podem

levar uma vida quase normal com uma forma benigna da doença. Dessa forma, a concentração de hemoglobina fetal baixa, leucocitose, alta frequência de crises álgicas e anemia aguda são fatores que levam à morte precoce dos pacientes (ANVISA, 2002).

A anemia falciforme é a expressão clínica da homozigose do gene da hemoglobina S e é a anomalia genética com maior prevalência no mundo, já no Brasil, sua prevalência é de 0,1% a 0,3% na população negra, atingindo também a população caucasiana brasileira em razão da miscigenação, enquanto na população africana sua prevalência é de 25% a 40% (SOARES, 2017).

Por ser uma doença decorrente de alterações gênicas, ainda não há cura para a anemia falciforme, porém existem alguns tipos de tratamentos que visam melhorar a qualidade de vida do portador através do controle das manifestações clínicas. Grande parte da população de portadores do gene da HbS acaba sofrendo com questões econômicas e sociais. Desta forma, a busca por uma cura é essencial e tem evoluído nos últimos anos, mas ainda não foi descoberta (ANVISA, 2002).

## **2. OBJETIVOS**

Realizar levantamento bibliográfico em bases de dados e bibliotecas científicas, para, após análise criteriosa, apresentar a prevalência e fisiopatologia da anemia falciforme, na busca pela integração dos aspectos moleculares e genéticos da doença às novas possibilidades de tratamentos por meio da técnica de edição gênica CRISPR-Cas9.

### 3. METODOLOGIA

Para confecção deste trabalho foi realizada uma revisão bibliográfica baseada em artigos científicos em inglês e português, preferencialmente publicados a partir de 2010 e buscados em bases de dados como SciELO (*Scientific Eletronic Library Online*), PubMed (*National Library of Medicine*), LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), e BIREME (Biblioteca Regional de Medicina).

Palavras-chave: Anemia Falciforme; Edição Gênica; Haplótipo; Aspectos Moleculares; CRISPR-Cas9.

*Keywords: Sickle Cell Anemia; Gene Editing; Haplotype; Molecular Aspects; CRISPR-Cas9.*

## 4. ANEMIA FALCIFORME

### 4.1 ANEMIA FALCIFORME NO BRASIL

A anemia falciforme teve origem no continente africano e subsequente origem nas Américas através das imigrações forçadas de aproximadamente 3 a 4 milhões de indivíduos africanos. É a doença hereditária de maior prevalência no mundo, com frequência de 25% a 40% em países africanos (SOARES, 2017) e de acordo com o documento Doença Falciforme publicado pelo Ministério da Saúde, acomete cerca de 60 mil brasileiros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Segundo ainda este documento, a população brasileira é composta por 3 grandes grupos étnicos, os ameríndios, os europeus e os africanos, este último grupo chegou ao Brasil na condição de escravos para trabalhar, principalmente, nas regiões norte e nordeste do país, conseqüentemente essas regiões apresentam maior prevalência de heterozigotos para o gene HbS (6% a 10%), enquanto a prevalência nas regiões sul e sudeste é menor (2% a 3%). A doença falciforme acomete cerca de 0,1% a 0,3% da população negra e devido à miscigenação a tendência na população caucasóide é a de aumentar a prevalência do gene S (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

## 4.2 ASPECTOS MOLECULARES DA DOENÇA

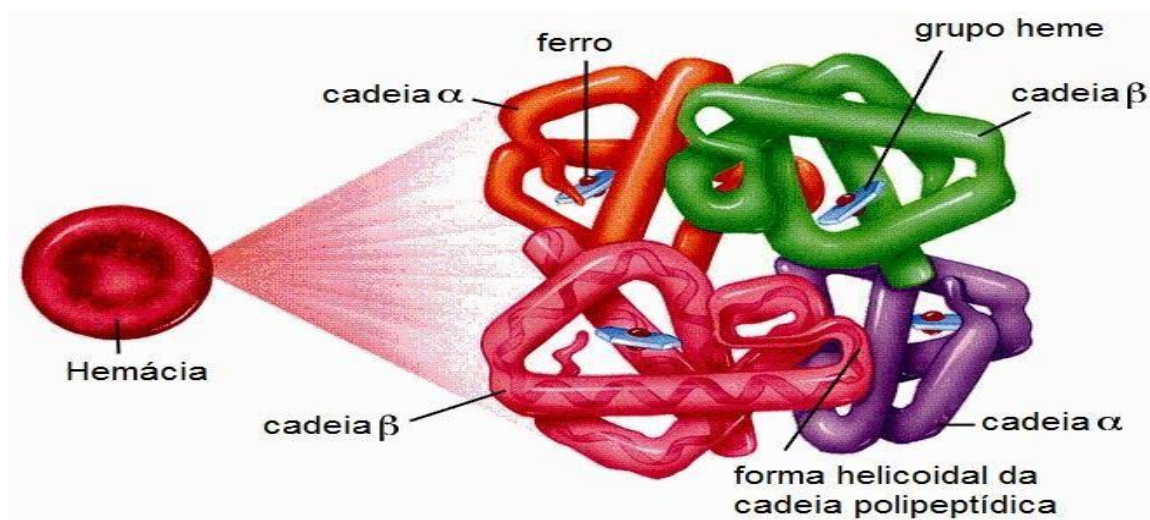
A hemoglobina é uma proteína presente nas hemácias responsável pelo transporte de oxigênio no corpo. É uma proteína de estrutura globular e quaternária composta por quatro cadeias polipeptídicas, e um grupo prostético heme ligado a cada uma das cadeias (Fig. 2 ). A hemoglobina A é composta por duas globinas Alfa e duas Beta, e a combinação entre variadas globinas formam os seis tipos de hemoglobinas humanas geradas durante as fases do desenvolvimento, como exemplificado na Figura 1 (NAOUM, 1997; MCINNES, 2016; PITOMBEIRA & NETO, 2003).

Figura 1 – Tipos de hemoglobina humana.

<b>Representação dos diferentes tipos de hemoglobina de acordo com seu principal período de produção e composição de cadeia globínica</b>		
<b>Quadro</b>		
<b>Tipo de hemoglobina</b>	<b>Período preponderante de síntese</b>	<b>Cadeias globínicas</b>
Gower-1	Embrião/até 3 <sup>o</sup> mês de gestação	$\xi_2\varepsilon_2$
Portland	Embrião/até 3 <sup>o</sup> mês de gestação	$\xi_2\gamma_2$
Gower-2	Embrião/até 3 <sup>o</sup> mês de gestação	$\alpha_2\varepsilon_2$
Hb Fetal	Feto/até 6 <sup>o</sup> mês de vida	$\alpha_2\gamma_2$
HbA <sub>2</sub>	Feto/vida adulta	$\alpha_2\delta_2$
HbA	Vida adulta	$\alpha_2\beta_2$

Fonte: Neto e Pitombeira, 2003.

Figura 2 – Estrutura quaternária da Hemoglobina.

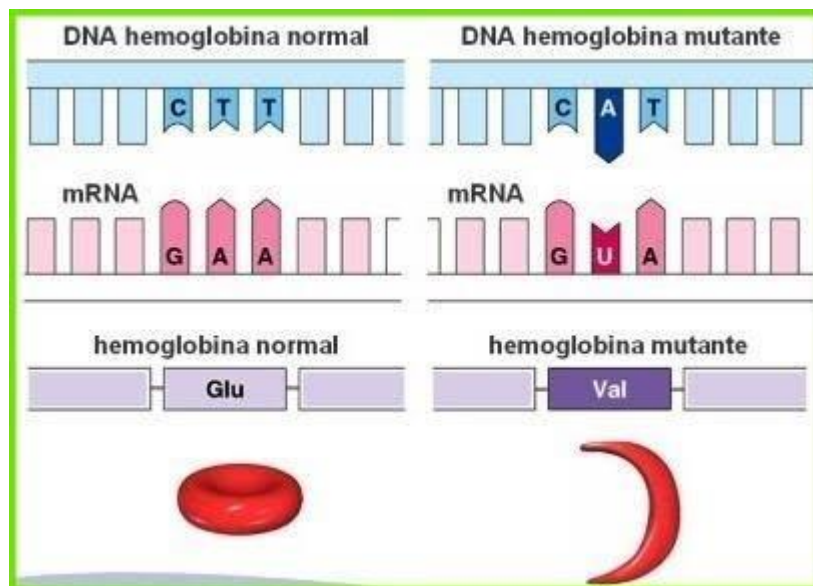


Fonte: <http://gassama.myweb.uga.edu/>, 2013.

Anemia falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia hereditária em que ocorre a mutação do gene  $\beta$ -globina que irá substituir uma base nitrogenada timina por adenina (GTT à GAT), no cromossomo 11 do DNA e ao invés de transcrever um ácido glutâmico, será transcrita uma valina, que resultará na formação da HbS, como representado na figura 3 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).



**Figura 3 - Alteração molecular da anemia falciforme.**



Fonte: Fernando Bragança, 2016.

A substituição do ácido glutâmico por valina gera uma instabilidade na hemoglobina, levando à polimerização da mesma em situações de hipóxia (BENFATO et al., 2007). A polimerização da HbS deforma os eritrócitos, que normalmente possuem um ciclo de vida de 120 dias, e adquirem a condição de drepanócitos (hemácias em forma de foice), com um ciclo de vida menor que dura de 10 a 20 dias, através do alinhamento com outras fibras do polímero HbS formando um feixe e alterando o formato do eritrócito. Essa alteração pode levar o paciente a ter crises hemolíticas e vaso-oclusivas (RAMOS, 2015). Alguns drepanócitos podem retornar à forma natural quando expostos a grandes concentrações de HbF mas, se houver dano irreversível sobre a membrana, as células não voltam ao estado normal mesmo após re-oxigenação. Os drepanócitos permanentemente falcizados após diversos processos de re-oxigenação e hipóxia são destruídos de forma prematura, caracterizando a AF como uma anemia hemolítica (ANVISA, 2002).

A vaso-oclusão é uma manifestação clínica característica da anemia falciforme. As hemácias falcizadas são responsáveis pela obstrução de vasos da microcirculação.

A obstrução ocorre por dois principais fatores, a vaso-oclusão mecânica ocasionada pelo formato das hemácias falcizadas que perdem sua capacidade de deformabilidade e a expressão de moléculas que contribuem para a adesão ao endotélio vascular. A obstrução dos vasos ocasiona infartos teciduais e, conseqüentemente dor ou danos teciduais irreversíveis no portador (ANVISA, 2002).

O traço falciforme é a forma heterozigótica para o gene da hemoglobina S e causa uma alteração comum e benigna em que o indivíduo herda uma hemoglobina S de um dos pais e uma hemoglobina A do outro (HbAS). O traço falciforme varia de 2% a 8% de acordo com a intensidade da população negra no Brasil. Os portadores do traço falciforme não costumam apresentar sintomas e nenhum tipo de alterações físicas e têm expectativa de vida semelhante ao restante da população; os exames hematológicos não apresentam anemia, os níveis de hemoglobina se apresentam dentro da normalidade. As hemácias, apesar de possuírem uma heterozigose da hemoglobina S com a hemoglobina A, têm tempo de vida normal devido à maior concentração de hemoglobina A e menor concentração de HbS em seu interior. O portador do traço falciforme pode apresentar sinais clínicos caso esteja sob condições que propiciem a falcização das hemácias como a acidose, hipóxia e desidratação (MURÃO E FERRAZ, 2007).

#### 4.3 HAPLÓTIPOS

O tipo de variabilidade mais comum no complexo gênico da globina beta é aquele produzido por variações de sequências que alteram o sítio de reconhecimento de uma enzima de restrição. O padrão de combinação dos sítios polimórficos é denominado haplótipo (SILVA E GONÇALVES, 2010).

Haplótipos são marcadores que foram herdados em determinada ordem num cromossomo específico. Eles são marcadores úteis para definir o fluxo do alelo Bs na população. O *locus* B está presente no cromossomo 11, que é um *locus* que sofreu diversas mutações ao passar do tempo. É possível verificar a composição das regiões que ficam próximas ao *locus* B através do uso de enzimas de restrição que irão identificar alterações do DNA. Os haplótipos podem representar diferentes origens étnicas e

geográficas, o haplótipo Benin (Ben) teve origem na Costa Oeste da África, chega ao norte da África, oeste da Arábia e sul da Europa; já o Bantu foi identificado na República da África Central (CAR), por isso pode ser conhecido como haplótipo CAR; o haplótipo Senegal (Sen) foi primeiramente encontrado no oeste da África Atlântica; o Camarão teve origem no decorrer da costa oeste da África; e o haplótipo Árabe-indiano está presente no sub-continente indiano e leste da península Árabe e pode ser chamado de haplótipo Indo-árabe (SILVA, 2006).

Cada um dos haplótipos está associado a diferentes sequências que controlam a expressão de hemoglobina fetal (HbF) e os níveis de HbF tem influência na densidade de células falcizadas nos pacientes, quanto maior o nível de hemoglobina fetal, menor a quantidade de eritrócitos falcizados. Portanto a síntese de hemoglobina fetal ajuda a determinar a gravidade do quadro clínico de pacientes com AF. Dessa forma, cada haplótipo associa-se a diversas sequências controladoras da expressão de HbF, que pode apresentar quadros graves, moderados ou intermediários. Os haplótipos Senegal e Indo-Árabe estão associados a quadros clínicos moderados por apresentarem uma média de 15%-30% de HbF, enquanto o Bantu associa-se a quadros graves e o Benin e Camarão a quadros intermediários. Haplótipos Benin, Camarão e Bantu apresentam quadros graves e intermediários, respectivamente tendo uma média de 5%-15% de HbF. Dessa forma, pode se dizer que a hemoglobina fetal é um fator importante, mas não é exclusivo para determinação do fenótipo do portador (SILVA, 2006).

**Figura 4 - Relação entre os haplótipos e a gravidade clínica de cada um.**

Haplótipos de Hb S	Hb total (g/dl)	Hb Fetal (%)	Gravidade Clínica
Bantu	5,0 – 8,5	5 – 7	++++
Benin	7,0 – 8,5	5 – 7	+++
Senegal	8,0 – 9,0	8 – 10	++
Camarões	8,0 – 9,0	5 – 7	++
Árabe-Indiano	~ 9	15 – 20	+
Atípica	~ 8	5 – 7	variável

(++++) muito grave; (+++) grave; (++) moderado; (+) discreto

Fonte: Naoum, 2004.

#### 4.4 TALASSEMIAS

Devido à possibilidade de ocorrência de pareamento da HbS com Beta-talassemia, iremos descrever brevemente esta hemoglobinopatia.

As talassemias são alterações genéticas que modificam a relação alfa e beta da cadeia globina, o que impede que certa quantidade de globina se ligue a um grupo heme e essa globina que não se liga ao grupo heme precipita nas células, o que pode causar hemólise e uma eritropoiese deficiente. Essa alteração pode acometer os grupos alfa, beta, gama, delta, épsilon, porém é mais comum e de maior significância clínica nos grupos alfa (alfa-talassemia) e beta (beta-talassemia) (MARTIN; THOMPSON, 2013).

As talassemias são as mais comuns das hemoglobinopatias com acometimento de aproximadamente 5% da população mundial, possuem pelo menos um alelo positivo em alguma das cadeias globina. Há uma relação diretamente proporcional entre a prevalência de portadores de talassemia e regiões que são ou já foram endêmicas de malária, como África subsaariana, sudeste da Ásia e o Mediterrâneo (OLIVIERI, 1999; HOFFBRAND, 2013).

### 5. TRATAMENTOS UTILIZADOS ATUALMENTE

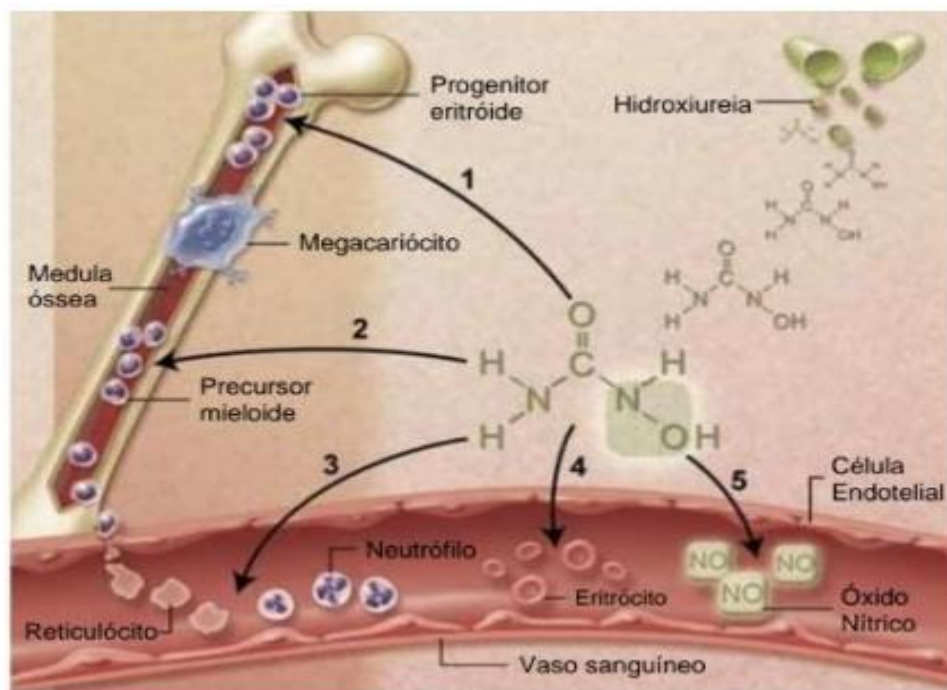
#### 5.1 HIDROXIUREIA

A hidroxiureia (HU) foi sintetizada inicialmente no ano de 1869 por Dresler e Stein em experimentos que procuravam extrair derivados da ureia, porém a hidroxiureia só foi ter seu primeiro uso clínico um século depois, principalmente como tratamento quimioterápico para diversos tumores e leucemias e foi aprovado pelo FDA (*Food and Drug Administration*) dos EUA em 1967. Ao passar dos anos a hidroxiureia foi cada vez mais utilizada no tratamento de leucemia mieloide crônica, psoríase, melanoma, câncer de ovário e HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) (BALLAS, 2006). Já nos anos 80 houve diversos estudos que mostram que essa medicação induz o aumento de HbF na

anemia falciforme, portanto foi aprovada pela FDA em 1998 para o tratamento de pacientes com doença falciforme grave e, nos últimos 30 anos, tem sido o principal método utilizado para tratamento modificador da doença. Há diversos estudos que mostram que a hidroxiureia apresenta uma melhora nos quesitos laboratoriais anormais da DF (Doença Falciforme) e reduz a frequência de crises vaso-oclusivas dolorosas, síndrome torácica aguda, hospitalizações, transfusões de sangue e, recentemente, tem aumentado a sobrevida dos portadores da AF (MCGANN E WARE, 2015).

O mecanismo de ação da hidroxiureia corresponde à inibição reversível da enzima ribonucleotídeo redutase (RR) que converte ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos que são necessários para a síntese e reparo do DNA. Essa inibição leva à diminuição dos *pools* intracelulares de trifosfatos de desoxirribonucleotídeos, impedindo a progressão da divisão celular. A interrupção da hematopoiese resulta na cinética eritroide alterada após a recuperação, conseqüentemente apresenta maiores níveis de HbF através do recrutamento de progenitores eritroides iniciais (MCGANN E WARE, 2015).

**Figura 5 - Múltiplos mecanismos de ação da hidroxiureia para AF.**



(1) Indução da hemoglobina fetal através da ativação da guanilil ciclase solúvel e alteração da cinética eritróide; (2) menor contagem de neutrófilos e reticulócitos devido à inibição da ribonucleotídeo redutase e citotoxicidade medular; (3) diminuição da adesividade e melhor reologia dos neutrófilos e reticulócitos circulantes; (4) redução da hemólise por meio de melhor hidratação eritrocitária, macrocitose e redução da falcização intracelular; e (5) liberação de óxido nítrico (NO) com potencial vasodilatação local e melhora da resposta vascular.

Fonte: Júnior, 2014.

Por outro lado, a hidroxiureia demonstra certa toxicidade, principalmente por induzir citopenias que tendem a serem leves e reversíveis. Pode afetar todas as linhagens celulares, porém é mais comum encontrar neutropenia leve ou moderada, reticulocitopenia e trombocitopenia, que são reversíveis seja por suspensão temporária do tratamento ou através da diminuição da dose ingerida. Ela pode apresentar efeitos clínicos colaterais, sendo os mais comuns, desconforto gastrointestinal leve, escurecimento da pele ou leito ungueal e um possível leve afinamento do cabelo. O uso a longo prazo da hidroxiureia pode causar efeitos indesejáveis e de extrema relevância

como potencializar infertilidade, riscos na gravidez como teratogênese e possível aumento do risco de malignidade (MCGANN E WARE, 2015).

**Quadro 1 - Toxicidades reconhecidas e potenciais da terapia com hidroxiureia na AF.**

<b>Muito Raro &lt;&lt;1%</b>	<b>Raro &lt;1%</b>	<b>Ocasional 1-10%</b>	<b>Comum &gt;10%</b>
Reação alérgica	Diarreia	Anemia	Leucopenia
Alanina aminotransferase (ALT) aumentada	Gastrite	Anorexia	Hiperpigmentação das unhas e pele
Creatinina aumentada	Hiperesplenismo	Queda de cabelo	Neutropenia
Malignidade	Pancitopenia	Náusea	Reticulocitopenia
Úlceras de pele	Vômito	Trombocitopenia	

Fonte: McGann e Ware, 2015.

## 5.2 TRANSFUSÃO DE HEMÁCIAS

A transfusão é indicada em casos de anemia severa, anemia com repercussão hemodinâmica, sequestro esplênico, aplasia pura de células vermelhas e hiper-hemólise. O tratamento pode ser feito através de transfusão simples, visando o aumento da capacidade de carreamento de oxigênio, sem reduzir significativamente os níveis de HbS (LOUREIRO, 2006).

Os pacientes com AF correm o risco de complicações relacionadas a transfusões contínuas, como infecções sanguíneas, aloimunização, sobrecarga de ferro, reações hemolíticas, reações alérgicas e hiper viscosidade do sangue (LOUREIRO, 2006).

## 5.3 TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS (TCTH)

O TCTH é um tratamento que consiste na eliminação dos componentes hematológicos e imunológicos do paciente através de quimioterapia, irradiação e alteração por células tronco-hematopoiéticas doadas ou próprias do paciente (HOFFBRAND; MOSS, 2013).

A única opção curativa utilizada atualmente na AF é o transplante de células tronco hematopoiéticas, que tem capacidade de restaurar a hematopoiese normal dos pacientes. Esse tratamento possui habilidade de produzir progenitores celulares e células filhas capazes de realizar autorreplicação (INCA, 2012).

### **5.3.1 Indicações**

Nem todos os pacientes podem realizar o TCTH, pois ele é indicado para pacientes com características específicas, como pacientes que apresentam falhas na resposta ao tratamento com HU em um período de 6 meses, em conjunto com a presença das seguintes manifestações clínicas (SIMÕES et al., 2010):

- Crises derivadas de obstrução e priapismo;
- Acidente vascular encefálico (AVE);
- Síndrome torácica aguda (STA);
- Doença pulmonar;
- Presença de estenose e oclusões;
- Cardiomiopatia;
- Exame anormal de Doppler das artérias cerebrais.

### **5.3.2 Fontes de células-tronco**

Segundo HOFFBRAND; MOSS, 2013, as células-tronco hematopoiéticas podem ter três origens diferentes:

- Medula óssea;
- Cordão umbilical;
- Sangue periférico.

### **5.3.3 Tipos de TCTH**

Existem dois tipos de transplantes, o autólogo, que utiliza as células tronco hematopoiéticas do próprio paciente e usa altas doses de quimioterapia para o



tratamento e sua problemática é a possibilidade de recidiva da doença de origem (SANTOS et al., 2015; SOARES et al., 2006). Enquanto o alogênico utiliza células-tronco hematopoiéticas de doadores com HLA (antígeno leucocitário humano) compatível com a do paciente, há grande possibilidade de incompatibilidade imunológica ocasionando imunodeficiência e DECH (doença de enxerto contra o hospedeiro) (BALMAN et al., 2009).

#### 5.4 TERAPIA GÊNICA E SEUS BENEFÍCIOS

“A habilidade de fazer modificações pontuais no genoma humano tem sido o objetivo da Medicina desde o conhecimento do DNA como unidade básica da hereditariedade” (Gonçalves e Paiva, 2017, p. 370). A terapia gênica tem como definição o aprimoramento genético através da reparação de genes mutados ou modificações sítio-específicas. A área de abordagem é ampla, tornando provável o tratamento de doenças causadas por genes recessivos, como a anemia falciforme, e de doenças genéticas adquiridas como o câncer, e algumas infecções virais como a AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) (GONÇALVES E PAIVA, 2017).

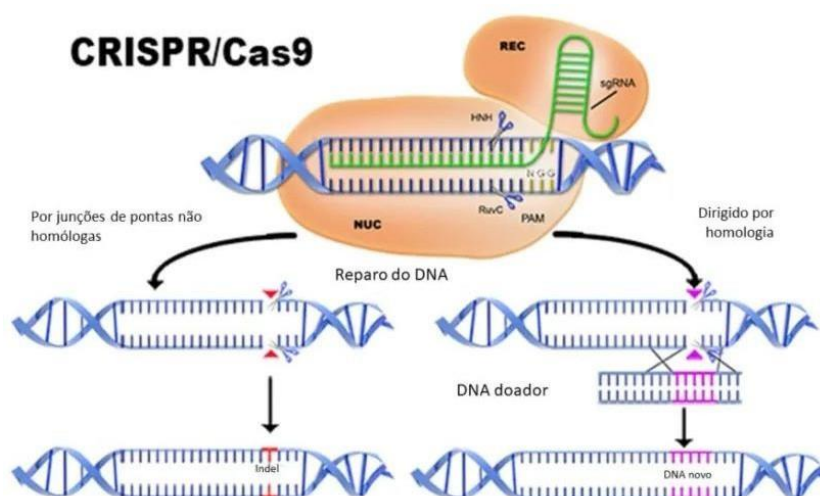
##### 5.4.1 Edição gênica CRISPR-CAS9

A técnica de CRISPR-Cas9 é um método de biologia molecular de baixo custo e altamente efetiva, precisa e simples quando comparada à outras técnicas, permite a edição de sequências de DNA alvo-específicas do genoma de qualquer organismo, através da deleção, inserção ou substituição de um ou mais nucleotídeos com o auxílio de 3 moléculas, a nuclease (Cas9), que cliva o DNA dupla fita, um RNA que guia o complexo até o alvo, e o DNA alvo, onde é realizada a edição do gene (ZHANG et al., 2014). Esse método possui outras aplicações além da edição genética, como a marcação de DNA, regulação da expressão gênica, clivagem de RNA, mapeamento de genes e rastreamento de DNA (ZHANG et al., 2014). A ativação e o direcionamento da Cas9 é mediado por duas moléculas de RNA, sendo elas a crRNA (CRISPR-*derived* RNA) e tracrRNA (*trans-activating* RNA), já para a aplicação laboratorial foi criado o *single guide*

RNA (sgRNA), uma molécula de caráter quimérico obtida através da junção do crRNA e tracrRNA e é responsável por ativar e direcionar a Cas9 (PEREIRA, 2016).

A quebra da dupla fita de DNA é gerada pela clivagem do DNA pela Cas9 e precisará ser restaurada pela célula por um de dois mecanismos, o NHEJ (junção de pontas não homólogas) ou o HDR (reparo direcionado por homologia). A ação simultânea entre a Cas9 e NHEJ é geralmente utilizada quando o objetivo é o nocauteamento do gene, enquanto o uso do HDR tem como foco o *knock-in* (introdução de novas sequências de DNA) ou a substituição alélica (PEREIRA, 2016).

**Figura 6 - Técnica de CRISPR-Cas9.**



Fonte: [Advanced Analytical](#).

Um estudo em andamento sobre o uso da CRISPR-Cas9 no tratamento da anemia falciforme (FRANGOUL et al., 2020) consiste na redução da expressão do gene BCL11A nos eritrócitos, reestabelecimento da síntese de gama-globina e reativação da produção de hemoglobina fetal. Para a realização desse estudo foram estabelecidos alguns critérios de inclusão, como idade entre 18-35 anos, diagnóstico de anemia falciforme e histórico de duas a três crises vaso-oclusivas por ano. Nessa pesquisa três pacientes receberam infusão intravenosa de uma terapia autóloga *ex vivo* de CRISPR-Cas9,

denominada CTX001, utilizando células-tronco hematopoiéticas (CTH) do próprio paciente geneticamente modificadas, com objetivo de produzir maiores níveis de HbF. Anterior à infusão foi administrado bulssulfano, um antineoplásico alquilante de DNA. Já após a infusão, células da medula óssea do paciente foram retiradas com o objetivo de análise da quantidade de DNA que possivelmente teria sido editada, sendo observado que antes da infusão os pacientes possuíam em média 9,1% de HbF e após 15 meses esse valor foi elevado a uma média de 43,2%, confirmando a eficácia do tratamento. Em relação à hemoglobina S, os pacientes apresentavam cerca de 74,1% antes da infusão, e depois de 15 meses esse valor diminuiu para uma média de 52,3%. Durante o tratamento houve a evidência de algumas reações adversas graves, como pneumonia na presença de neutropenia, cálculo biliar e dor abdominal, também ocorreu linfopenia, considerado um sintoma não grave. Contudo, foi constatado que entre 3-15 meses os 3 pacientes apresentaram aumento na hemoglobina adulta e fetal e, em destaque, não apresentaram crises vaso-oclusivas, uma das principais e mais importantes manifestações da doença. Esses resultados foram de grande notabilidade, visto que a ausência de crises vaso-oclusivas evitam diversas complicações como derrame, STA (síndrome torácica aguda), necrose papilar renal, auto-esplenectomia, úlceras nas pernas, priapismo, necrose óssea asséptica e perda visual (FRANGOUL et al., 2020). Segundo Frangoul et al., 2021, por mais que os dados obtidos sejam positivos e esperançosos, ainda é necessário avaliar a longo prazo o uso dessa terapia para caracterizar a efetividade desse tratamento.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Após pesquisas sobre os aspectos moleculares e fisiopatológicos da doença falciforme foi descrita a relevância da procura por novos tratamentos, visto que é a hemoglobinopatia com maior prevalência no Brasil e ainda não possui nenhum tipo de tratamento suficientemente eficaz. O uso da terapia com edição gênica utilizando a técnica CRISPR-Cas9 tem sido estudada, como foi evidenciado na revisão e mostrou resultados promissores no tratamento da anemia falciforme. Por outro lado, ainda é necessário realizar mais ensaios clínicos para o aprimoramento dessa técnica como possível tratamento assertivo. Dessa forma, nota-se a importância da consistência de pesquisas nesse cenário para melhoria contínua da qualidade de vida dos portadores dessa hemoglobinopatia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA (Brasília). ANVISA. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doença Falciformes**. 1. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2002. 142 p. ISBN 85-88233-04-5. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/anvisa/diagnostico.pdf>. Acesso em: 13 out. 2022.

BALLAS, S.K. et al. Hydroxyurea and sickle cell anemia: Effect on quality of life. **Health Quality Life Outcomes**. Philadelphia v.4, p.59, Ago. 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1569824/>. Acesso em: 25/08/2022

BALMAN, Fabíola França *et al.* Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas Alogênico e Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Aguda (DECHA):: uma Revisão da Profilaxia e Tratamento. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, [s. l.], v. 32, n. 6, p. 211-216, 2009. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Rogério-Vaz/publication/258697940\\_Allogeneic\\_hematopoietic\\_stem\\_cell\\_transplantation\\_and\\_acute\\_graft\\_versus\\_host\\_disease\\_aGVHD\\_a\\_review\\_over\\_prophylaxis\\_and\\_treatment/links/02e7e528d1a7b11290000000/Allogeneic-hematopoietic-stem-cell-transplantation-and-acute-graft-versus-host-disease-aGVHD-a-review-over-prophylaxis-and-treatment.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Rogério-Vaz/publication/258697940_Allogeneic_hematopoietic_stem_cell_transplantation_and_acute_graft_versus_host_disease_aGVHD_a_review_over_prophylaxis_and_treatment/links/02e7e528d1a7b11290000000/Allogeneic-hematopoietic-stem-cell-transplantation-and-acute-graft-versus-host-disease-aGVHD-a-review-over-prophylaxis-and-treatment.pdf). Acesso em: 14 set. 2022.

BENFATO, Mara da Silveira *et al.* A Fisiopatologia da Anemia Falciforme. **Infarma Ciências Farmacêuticas**, Porto Alegre, v. 19, n. 1/2, p. 3-6, 2007. Disponível em: <https://www.revistas.cff.org.br/journal=infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=216&path%5B%5D=204>. Acesso em: 12 out. 2022.

BOUZAS, Luis Fernando da Silva *et al.* Tópicos em Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas. **Instituto Nacional José Alencar Gomes da Silva (INCA)**, [S. l.], p. 1-191, 1 jan. 2012. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/topicos\\_transplantes.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/topicos_transplantes.pdf). Acesso em: 23 jun. 2022.

DOENÇA Falciforme. Brasil. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/folder/doenca\\_falciforme\\_flyer\\_web.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/folder/doenca_falciforme_flyer_web.pdf). Acesso em: 22 nov. 2021.

FERREIRA, Reginaldo; GOUVÊA, Cibele Marli Cação Paiva. Recentes avanços no tratamento da anemia falciforme. **Anemia Falciforme**, Alfenas- MG, v. 28, p. 1-6, 2018. DOI <http://www.dx.doi.org/10.5935/2238-3182.20180006>. Disponível em: <http://www.rmmg.org/artigo/detalhes/2324>. Acesso em: 20 ago. 2022.

FRANGOUL, Haydar *et al.* CRISPR-Cas9 Gene Editing for Sickle Cell Disease and  $\beta$ -Thalassemia. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, p. 252-260, 21 jan. 2021. DOI 10.1056/NEJMoa2031054. Disponível em: [https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2031054?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2031054?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed). Acesso em: 15 out. 2022.

GALIZA NETO, Gentil Claudino de; PITOMBEIRA, Maria da Silva. Aspectos moleculares da anemia falciforme. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, p. 51-56. jan. 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/8rKFQ3fJQMqtDSTrg8pDgbc/?lang=pt>. Acesso em: 13 nov. 2021.

GONÇALVES, Giulliana Augusta Rangel; PAIVA, Raquel de Melo Alves. Terapia gênica: Avanços, desafios e perspectivas. **Terapia gênica**, São Paulo, v. 15, 14 fev. 2017. Revendo Ciências Básicas- Einsten, p. 369-375. DOI <https://doi.org/10.1590/S1679-45082017RB4024>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/cPw3g6fGY8srqk5hs83dDKR/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 20 ago. 2022.

HOFFBRAND, A. V. **Fundamentos em Hematologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 464 p. ISBN 8565852296. Disponível em: <http://repositorio.unesc.net/bitstream/1/7460/1/cap%C3%ADtulo%2005.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2022.

INCA; MINISTÉRIO DA SAÚDE. Tópicos em transplante de células-tronco hematopoéticas. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: Acesso em: 16 mar 2016.

LOUREIRO, Monique Morgado. **Epidemiologia das internações hospitalares e tratamento farmacológico dos eventos agudos em doença falciforme.**

2006. 130 f. Tese (Doutorado em saúde pública) - FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/4392/247.pdf?sequence=2&isAllowed=y>. Acesso em: 18 set. 2021.

MARTIN, Alissa; THOMPSON, Alexis A. **Thalassemias. Pediatric Clinics of North America**, Chicago, v. 60, 10 dez. 2013. *Pediatric Hematology*, p. 1383-1391. DOI <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2013.08.008>. Disponível em: <http://repositorio.unesc.net/bitstream/1/7460/1/cap%C3%ADtulo%2005.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2022.

MARTINS, Ana Cláudia Magnus et al. **Doença Falciforme**. 2020. Disponível em: [https://www.ufrgs.br/telessauders/documentos/telecondutas/telecondutas\\_anemia\\_falciforme\\_08.01.2020.pdf](https://www.ufrgs.br/telessauders/documentos/telecondutas/telecondutas_anemia_falciforme_08.01.2020.pdf). Acesso em: 13 nov. 2021.

MARQUES, Viviane. **Reverendo a Anemia Falciforme: sintomas, tratamentos e perspectivas**. Orientador: Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti. 2011. 43 f. Monografia (Bacharelado Farmácia) - FACULDADE DE EDUCAÇÃO E MEIO AMBIENTE, Ariquemes - RO, 2011. Disponível em: <https://repositorio.faema.edu.br/bitstream/123456789/203/1/MARQUES%2c%20V.%20-%20REVENDO%20A%20ANEMIA%20FALCIFORME..%20SINTOMAS%2c%20TRATAMENTOS%20E%20PERSPECTIVAS.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2022.

MCGANN, Patrick T; WARE, Russell E. Hydroxyurea therapy for sickle cell anemia. **Sickle cell anemia**, *Expert Opin Drug Saf*, v. 14, p. 1749-1758, 2015. DOI <https://doi.org/10.1517%2F14740338.2015.1088827>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5868345/pdf/nihms873714.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2022.

MCINNES, Roderick R. **Thompson & Thompson Genética Médica**. [S. l.]: GEN Guanabara Koogan, 2016. 400 p. ISBN 8535284001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasília). Ministério da Saúde. **Doença Falciforme: Diretrizes Básicas da Linha de Cuidado**. 1. ed. Brasília: MS, 2015. 82 p. ISBN 978-85-334-2310-7.

Disponível em:  
[https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca\\_falciforme\\_diretrizes\\_basicas\\_linha\\_cuidado.pdf](https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca_falciforme_diretrizes_basicas_linha_cuidado.pdf). Acesso em: 3 jul. 2022.

MURAO, Mitiko; FERRAZ, Maria Helena C. Traço falciforme – heterozigose para hemoglobina S. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Belo Horizonte, v. 3, n. 29, p. 223-225, 2007. Disponível em:  
<https://www.scielo.br/j/rbhh/a/K76Jy5LMK7cjJWqYCGyk7Pj/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 13 nov. 2021.

NAOUM, Paulo Cesar *et al.* Doença falciforme no Brasil: Origem, genótipo, haplótipos e distribuição geográfica. **Jornal Brasileiro de Patologia**, Brasil, v. 33, p. 145-153, 10 set. 1997. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-220839>. Acesso em: 14 jul. 2022.

OLIVIERI, Nancy F. The  $\beta$ -Thalasseмииs. **The New England Journal of Medicine**, Toronto, v. 341, p. 99-109, 8 jul. 1999. DOI 10.1056/NEJM199907083410207. Disponível em:  
[https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejm199907083410207?casa\\_token=D9oit51\\_L7sAAAAA:DP\\_C0rYYiSPQEViEukkkAaSR8qHi8QM0yuTfh4rKT7DbOAXeFL0KqKF\\_4yzQhsR26oxSG4aRqWLJvYoL0A](https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejm199907083410207?casa_token=D9oit51_L7sAAAAA:DP_C0rYYiSPQEViEukkkAaSR8qHi8QM0yuTfh4rKT7DbOAXeFL0KqKF_4yzQhsR26oxSG4aRqWLJvYoL0A). Acesso em: 20 ago. 2022.

PEREIRA, Tiago Campos. **Introdução à Técnica de CRISPR**. 1. ed. [S. l.]: SBG, 2016. 250 p. ISBN 9788589265249.

RAMOS, J. T. et al. Mortalidade por doença falciforme em estado do nordeste brasileiro. **Revista de Enfermagem do Centro Oeste Mineiro**, Bahia, v. 5, n. 2, p. 1604- 1612, maio/ago. 2015.

SANTOS, Kelli Borges dos. Qualidade de vida pós-transplante autólogo de células-tronco hematopoiéticas. **Revista de Enfermagem da UFJF**, [s. l.], v. 1, n. 1, 2015. Disponível em:  
<https://periodicos.ufjf.br/index.php/enfermagem/article/view/3794/1569>. Acesso em: 20 set. 2022.



SEMINÁRIO NACIONAL SAÚDE DA POPULAÇÃO NEGRA, 2004, Brasília. **Seminário Nacional de Saúde da População Negra** [...]. [S. l.: s. n.], 2004. 117 p. Tema: Saúde da População Negra. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/seminario\\_nacional\\_saude\\_pop\\_negra.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/seminario_nacional_saude_pop_negra.pdf). Acesso em: 5 out. 2022.

SILVA, MARIA APARECIDA LIMA. **Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em pacientes com anemia falciforme**. Orientador: Lúcia Mariano da Rocha Silla. 2006. 107 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado Ciências Médicas) - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, Rio Grande do Sul, 2006. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/7742/000555295.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 20 ago. 2022.

SILVA, Lilianne B.; GONÇALVES, Romélia P. Características fenotípicas dos pacientes com anemia falciforme de acordo com os haplótipos do gene da  $\beta$ S-globina em Fortaleza, Ceará. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Fortaleza, v. 32, n. 1, p. 40-44, fev. 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/DVMZJjBWLW386RPvY7sr7qB/?lang=pt>. Acesso em: 25 nov. 2021.

SIMÕES, Belinda p *et al.* Consenso brasileiro em transplante de células-tronco hematopoéticas: comitê de hemoglobinopatias. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S. l.], p. 46-53, 1 maio 2010. DOI 10.1590/S1516-84842010005000020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/NSQMNK9ykwX8ZshwHSvvtDt/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 14 abr. 2022.

SOARES, Leonardo Ferreira *et al.* Prevalência de hemoglobinas variantes em comunidades quilombolas no estado do Piauí, Brasil. **Ciência e Saúde Coletiva**, [s. l.], v. 22, p. 3773-3780, 2017. DOI <https://doi.org/10.1590/1413-812320172211.04392016>. Disponível em: <https://www.scielo.org/article/csc/2017.v22n11/3773-3780/#>. Acesso em: 7 jun. 2022.

SOARES, RITA MARIA *et al.* **Transplante autólogo de células tronco hematopoéticas: orientação aos profissionais**. PORTO ALEGRE: [s. n.], 2006. 23 p. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/135259/000542762.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 4 jul. 2022.

SOUZA, LAYSA MIRELLE SOARES. **Transplante de células-tronco hematopoéticas na anemia falciforme**. Orientador: Milton Rego de Paula Jr. 2016. 25 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado Biomedicina) - Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2016. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/235/9058/1/21496404.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2022.

ZHANG, Feng; GUO, Yan Wen and Xiong. CRISPR/Cas9 for genome editing: Progress, implications and challenges. **CRISPR/Cas9**, China, v. 23, 20 mar. 2014. Human Molecular Genetics, p. 40-46. DOI <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu125>. Disponível em: <https://academic.oup.com/hmg/article/23/R1/R40/2900693>. Acesso em: 20 ago. 2022.