



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA

Colegiado de Medicina

Bacharelado em Medicina

RAPHAEL MAGALHÃES

**IDENTIFICAÇÃO DOS HAPLÓTIPOS β^S EM PESSOAS
COM ANEMIA FALCIFORME**

Barreiras, BA

2023

RAPHAEL MAGALHÃES

**IDENTIFICAÇÃO DOS HAPLÓTIPOS β^S EM PESSOAS
COM ANEMIA FALCIFORME**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal do Oeste da Bahia como requisito parcial para conclusão do componente Trabalho de Conclusão de Curso e obtenção do título de Bacharel em Medicina.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Larissa Paola Rodrigues Venancio

Barreiras, BA

14 de dezembro de 2023

FICHA CATALOGRÁFICA

M188 Magalhães, Raphael.

Identificação dos haplótipos β S em pessoas com anemia falciforme. / Raphael Magalhães. – 2023.

39f. il.

Orientador: Profa. Dra. Larissa Paola Rodrigues Venâncio.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina) – Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. Barreiras, BA, 2023.

1. Anemia falciforme. 2.HbS. 3. Benin. 4. Bantu. I. Venâncio. Larissa Paola Rodrigues. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia - Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. III. Título.

CDD 616.1527

Biblioteca Universitária de Barreiras - UFOB




UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA

Centro das Ciências Biológicas e da Saúde


Curso de Medicina

ATA DE DEFESA PÚBLICA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO


Aos **14** dias do mês de **dezembro** de **2023**, às **9h**, em sessão pública na sala virtual meet.google.com/aag-bmvj-frf da Universidade Federal do Oeste da Bahia, na presença da Banca Examinadora presidida pela Professora **Dr^a Larissa Paola Rodrigues Venancio** e composta pelos examinadores: **Prof^o Dr^a Jessika Viviani Okumura** e **Prof. Dr. Danilo Grünig Humberto da Silva**, o aluno **Raphael Magalhães** apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: “**Identificação dos haplótipos β^s em pessoas com Anemia Falciforme**” como requisito curricular indispensável para a integralização do Curso de Medicina. Após reunião em sessão reservada, a Banca Examinadora deliberou e decidiu pela **aprovação** do referido trabalho, divulgando o resultado formalmente ao aluno e demais presentes e eu, na qualidade de Presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais examinadores.

Documento assinado digitalmente
 **LARISSA PAOLA RODRIGUES VENANCIO**
 Data: 17/12/2023 10:26:17-0300
 Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Presidente da Banca Examinadora – Larissa Paola Rodrigues Venancio

Documento assinado digitalmente
 **JESSIKA VIVIANI OKUMURA MARTINS**
 Data: 16/12/2023 10:31:00-0300
 Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Examinador 01 - Jessika Viviani Okumura

Documento assinado digitalmente
 **DANILO GRUNIG HUMBERTO DA SILVA**
 Data: 16/12/2023 09:30:19-0300
 Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Examinador 02 – Danilo Grünig Humberto da Silva

AGRADECIMENTOS

— À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pela oportunidade concedida e pelo suporte financeiro vinculado ao projeto “Investigação de agravos da população negra do Oeste baiano e do vale são franciscano da Bahia: padrões genéticos, bioquímicos e sociodemográficos das pessoas com doença falciforme na região de Barreiras”, coordenado pela Prof.^a Dr.^a Larissa Paola Rodrigues Venancio. Seu compromisso com o desenvolvimento acadêmico foi fundamental para a concretização deste estudo. Agradeço veementemente à FAPESB por acreditar nesta proposta.

RESUMO

MAGALHÃES, R. Identificação de haplótipos β^S em pessoas com anemia falciforme. Barreiras, Bahia, 2023, 39p, Monografia – Bacharelado em Medicina – Centro das Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Oeste da Bahia.

A hemoglobina S (Hb S) é consequência da alteração de uma base nitrogenada no gene da β -globina ocasionando a troca de um ácido glutâmico por uma valina no sexto códon do RNA mensageiro ($\beta^6\text{Glu}\rightarrow\text{Val}$). As doenças falciformes (DF) são um conjunto de condições genéticas hereditárias que afetam a estrutura da hemácia causando sintomas. A grande variedade das apresentações fenotípicas das doenças falciformes pode ser justificada, em parte, por moduladores genéticos de gravidade, a exemplo os haplótipos beta-S (β^S). Haplótipos são polimorfismos localizados em único grupamento gênico que tendem a serem herdados em conjunto. Os haplótipos β^S estão associados a quantidade nos níveis da hemoglobina fetal, modulação de gravidade clínica e resposta ao tratamento das pessoas com DF. Os haplótipos típicos β^S são classificados em Bantu (também conhecido como República Centro Africana – CAR), Benin, Senegal, Camarões e Árabe-indiano, nomenclatura relacionada à região ou grupo étnico de origem desses polimorfismos na região africana. Haplótipos que não se adequam a esses grupos são chamados atípicos. Foi objetivo desse estudo a identificação dos haplótipos β^S de pacientes cadastrados no programa de doença falciforme na cidade de Barreiras, Bahia. Neste estudo foram avaliadas 37 amostras de sangue de pacientes não consanguíneos em tratamento no Programa de Atenção à Pessoa com Doença Falciforme, da Secretaria Municipal de Saúde de Barreiras – BA, todos genotipados para Anemia Falciforme, 22 do sexo feminino, 15 do sexo masculino com média de idade de 26,16 anos. Destes pacientes foram extraídos DNA genômico para investigação dos haplótipos por biologia molecular. O método de análise de polimorfismo de fragmentos de restrição por meio da reação em cadeia de polimerase (PCR - RFLP) foi utilizado para determinação dos haplótipos. Dados de frequência alélica e genotípica foram comparados com outros estudos e significância estatística calculada por qui-quadrado de aderência e exato de Fisher. A caracterização dos cinco principais grupos de haplótipos revelou a presença de haplótipos Bantu (CAR) e Benin (BEN), distribuídos em: 16 (43,24%) CAR/BEN, 14 (37,84%) CAR/CAR e 7 (18,92%) BEN/BEN. Contudo, não foi identificada diferença estatística significativa entre as frequências entre cromossomos CAR e BEN ($p = 0,13$) e entre as frequências genotípicas dos haplótipos ($p = 0,16$). A ausência de haplótipos SEN, CAM, ARB ou ATP possivelmente relaciona-se a amostragem limitada. A comparação com estudos anteriores fortalece a associação entre frequência de haplótipos β^S , história do comércio de escravos e migrações recentes, corroborando a predominância de haplótipos da África Central e Ocidental.

Palavras-Chave: Bantu. Benin. HbS. PCR-RFLP.

ABSTRACT

MAGALHÃES, R. Identification of β^S haplotypes in individuals with sickle cell anemia. Barreiras, Bahia, 2023, 39p, Monography - Bachelor of Medicine - Center of Biological and Health Sciences, Federal University of Western Bahia.

The Sickle Cell Disease (SCD) is a result of a change in a nitrogenous base in the β -globin gene, causing the substitution of a glutamic acid by a valine at the sixth codon of the messenger RNA ($\beta^6\text{Glu}\rightarrow\text{Val}$). SCD comprises a group of hereditary genetic conditions that affect the red blood cell's structure, leading to symptoms. The wide range of phenotypic presentations of sickle cell diseases can partly be justified by genetic severity modulators, such as the beta-S (β^S) haplotypes. Haplotypes are polymorphisms located within a single gene cluster that tend to be inherited together. The β^S haplotypes are associated with fetal hemoglobin levels, clinical severity modulation, and treatment response in individuals with SCD. Typical β^S haplotypes are classified as Bantu (also known as Central African Republic - CAR), Benin, Senegal, Cameroon, and Arab-Indian, named after the region or ethnic group where these polymorphisms originate in the African region. Haplotypes that do not fit into these groups are called atypical. This study aimed to identify β^S haplotypes in patients enrolled in the sickle cell disease program in the city of Barreiras, Bahia. Thirty-seven blood samples from non-consanguineous patients undergoing treatment at the Sickle Cell Disease Program of the Municipal Health Department of Barreiras - BA were evaluated in this study. Among them, 22 were female, 15 were male, with an average age of 26.16 years. Genomic DNA was extracted from these patients for haplotype investigation using molecular biology techniques. The method used for polymorphism analysis, restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), was employed to determine the haplotypes. Allelic and genotypic frequency data were compared with other studies, and statistical significance was calculated using chi-square adherence and Fisher's exact tests. The characterization of the five main haplotype groups revealed the presence of Bantu (CAR) and Benin (BEN) haplotypes, distributed as follows: 16 (43.24%) CAR/BEN, 14 (37.84%) CAR/CAR, and 7 (18.92%) BEN/BEN. However, no significant statistical difference was identified between the frequencies of CAR and BEN chromosomes ($p = 0.13$) or between the genotypic frequencies of the haplotypes ($p = 0.16$). The absence of SEN, CAM, ARB, or ATP haplotypes may be related to the limited sample size. Comparison with previous studies strengthens the association between β^S haplotype frequencies, the history of the slave trade, and recent migrations, supporting the predominance of haplotypes from Central and West Africa.

Keywords: Bantu. Benin. HbS β^S . PCR-RFLP.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1. HAPLÓTIPOS DO GRUPAMENTO GÊNICO β^S	12
2.2. HAPLÓTIPO BANTU	14
2.3. HAPLÓTIPO BENIN	15
2.4. HAPLÓTIPO SENEGAL	16
2.5. HAPLÓTIPO CAMARÕES	16
2.6. HAPLÓTIPO ÁRABE-INDIANO.....	16
2.7. HAPLÓTIPO ATÍPICOS.....	17
3. JUSTIFICATIVA	17
4. OBJETIVOS	18
4.1. OBJETIVO GERAL	18
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
5. METODOLOGIA	19
5.1. DESENHO DO ESTUDO.....	19
5.2. TIPO DE ESTUDO.....	19
5.3. LOCAL DE PESQUISA	19
5.4. POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	20
5.5. EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO TOTAL	20
5.6. INVESTIGAÇÃO DOS HAPLÓTIPOS β^S POR PCR-RFLP.....	21
5.7. ANÁLISE DE DADOS.....	25
5.8. ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS (RESOLUÇÃO 466/12). 25	
6. RESULTADOS	25
6.1. CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DOS HAPLÓTIPOS TÍPICOS	25
7. DISCUSSÃO	27
8. CONCLUSÃO	31
9. REFERÊNCIAS	32

1. INTRODUÇÃO

As doenças falciformes são um conjunto de hemoglobinopatias hereditárias que apresentam manifestações clínicas associadas à falcização da hemácia, essa advinda de alterações na proteína devido mutações no gene da beta (β) globina (Costa; Conran; Fertrin, 2014). As mutações podem se apresentar em homozigose, como no caso da anemia falciforme (SS), ou heterozigose composta com a presença de um alelo β^S e outro alelo mutante que não β^S (Piel; Steinberg; Rees, 2017).

A anemia falciforme é uma condição específica das doenças falciformes caracterizada geneticamente por uma mutação de ponto no 20º nucleotídeo do gene da β globina (GAG→GTG) levando a alteração no códon 6 do RNA mensageiro (RNAm) (Inusa *et al.*, 2019). Tal alteração proporciona a formação da globina beta-S com a troca do aminoácido ácido glutâmico para valina, processo que resulta em uma perda de carga negativa e ganho de uma área hidrofóbica nas unidades β da hemoglobina S (Hb S) (Ifeanyi, 2020).

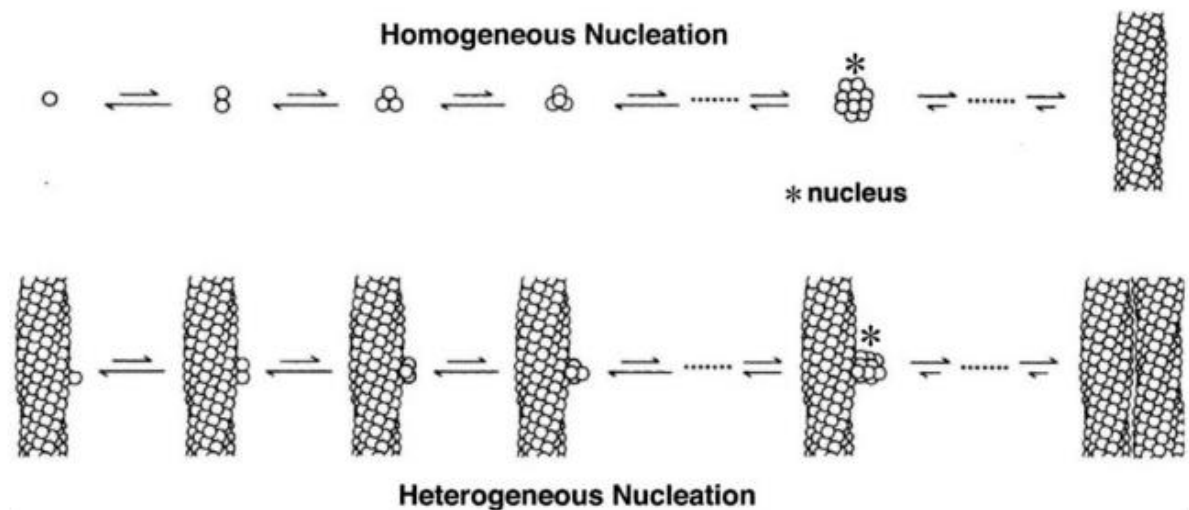
Dentre as doenças falciformes destacam-se: hemoglobinopatia SC (SC), hemoglobinopatia SD (SD), hemoglobina S- β talassemia (S/ β tal⁰ e S/ β tal⁺) e hemoglobina S-persistência hereditária de hemoglobina fetal (S/PHHF) (Costa; Conran; Fertrin, 2014). Essas doenças irão diferir entre si quanto a gravidade clínica variando desde manifestações clínicas mais brandas como no perfil S/PHHF até perfis de gravidade acentuada como na anemia falciforme e na S/ β tal⁰ (Eaton; Bunn, 2017).

A fisiopatologia da doença falciforme está relacionada a dois eventos principais: a hemólise da Hb S e a vaso-oclusão (Papageorgiou *et al.*, 2018). A hemoglobina S, quando oxigenada, é funcional e morfológicamente similar à hemoglobina normal ou hemoglobina A (Hb A), excedendo-se o sítio hidrofóbico resultante da mutação pontual. Assim sendo, os processos que determinam a fisiopatologia dessas doenças ocorrerão na forma desoxigenada (Hebbel; Vercellotti, 2019).

A sutil mudança estrutural ocasionada pela desoxigenação da hemoglobina permite a aproximação do sítio propiciado pela mutação β^{6Val} com a região hidrofóbica gerada pelos resíduos de aminoácidos β^{85Phe} , β^{88Leu} e β^{70Ala} em uma hemoglobina adjacente resultando em uma ligação hidrofóbica (Ghatge *et al.*, 2016). O agregado de 30 a 50 tetrâmeros da hemoglobina S através de ligações hidrofóbicas forma o núcleo crítico. Esse núcleo atua como base para a adesão de novos tetrâmeros e condiciona a formação do polímero, esse

responsável pela falcização do eritrócito (Hebbel; Vercellotti, 2019) (Figura 1). Episódios recorrentes de falcização, quando não provocam a hemólise diretamente, danificam a membrana do eritrócito. O dano a membrana está relacionado a expressão alterada de moléculas de superfície e de moléculas deletérias, ambas determinantes do processo de vaso-oclusão (Li *et al.*, 2017).

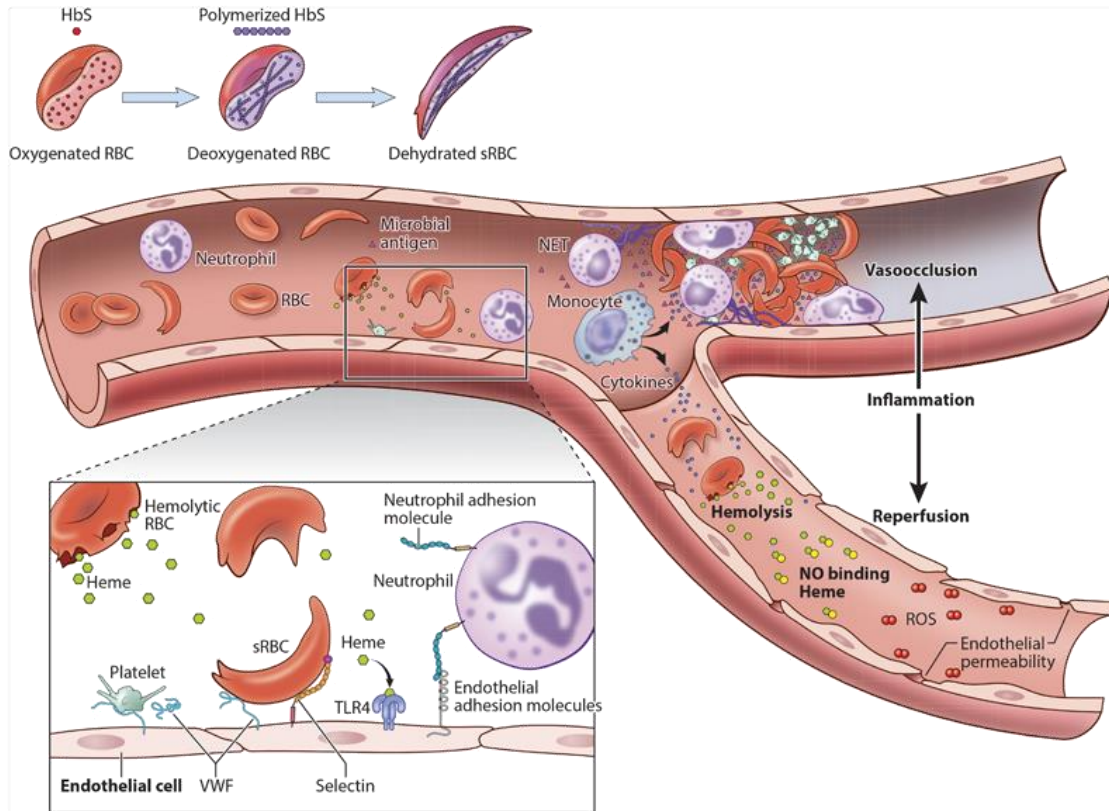
Figura 1 - Processo de dupla nucleação na formação do polímero. Nucleação homogênea com adesão lateral dos tetrâmeros e formação do núcleo crítico. Nucleação heterogênea na qual a formação do núcleo crítico é mais estável por ocorrer em um polímero já formado.



Fonte: Ferrone, Hofrichter e Eaton, 1985

A lesão na membrana do eritrócito expõe epítomos internos na superfície dessa célula, bem como permite a saída da hemoglobina que ao ser oxidada libera o grupo heme. Essas moléculas são reconhecidas por receptores das células endoteliais que as ativam. Essas começam a expressar moléculas de adesão celular, citocinas pró-inflamatórias e fatores coagulantes e vasoconstritores. A junção desses eventos promove a adesão dos leucócitos, plaquetas e hemácias ao endotélio com conseqüente redução no fluxo sanguíneo, obstrução do vaso, hipóxia e isquemia tissular (Williams; Thein, 2018), e o conjunto desses fenômenos é o processo vaso-oclusivo (Figura 2).

Figura 2 - Fisiopatogenia do processo vaso-oclusivo. Estado pró-inflamatório e de hipercoagulabilidade gerado por danos as membranas dos eritrócitos por repetidos processos de falcização. Eventual exposição de padrões moleculares associados ao dano (DAMP, em inglês) que são reconhecidos por receptores de superfície das células endoteliais. Interação de plaquetas, eritrócitos, monócitos, neutrófilos e células endoteliais com eventual oclusão do vaso e lesões por isquemia-reperfusão.



Fonte: Williams e Thein, 2018

A vaso-oclusão é a principal desencadeante de outras complicações observadas nas pessoas com doença falciforme como crises algicas, síndrome torácica aguda, envolvimento renal e hepático, acidente vascular encefálico (AVE) e falência múltipla de órgãos (Darbari; Sheehan; Ballas, 2020).

Os tratamentos mais conhecidos para as doenças falciforme incluem o uso de hidroxiureia, a transfusão sanguínea, o uso de ácido fólico, quelação de ferro, antibioticoterapias, vacinação e transplante de células tronco hematopoiéticas. Dessas, destacam-se como principais a hidroxiureia e a transfusão de células vermelhas (Silva-Pinto *et al.*, 2022). A hidroxiureia é um quimioterápico com potencial efeito no aumento da Hb F nas pessoas com DF, porém apresenta riscos de toxicidade hematológica, teratogenicidade, carcinogenicidade, infertilidade, dentre outros. Já a transfusão de hemácias é um tratamento com resultado imediato, porém não duradouro, e está associada à hemocromatose e reações

transfusionais hemolíticas tardias secundárias à aloimunização (Kapoor; Little; Pecker, 2018). Mesmo tendo tratamento, algumas pessoas com DF não apresentam melhora no seu quadro.

Além das mutações que definem cada doença falciforme, moduladores genéticos de gravidade explicam, em parte, a ampla variedade fenotípica de cada doença. Destacam-se entre esses moduladores a hemoglobina fetal (Hb F), a talassemia-alfa (α), polimorfismos da região controladora de locus e os haplótipos do complexo do gene da β -globina (Costa; Conran; Fertrin, 2014).

De forma geral, os haplótipos estão associados a uma grande variação clínica e podem indicar o prognóstico de pessoas com anemia falciforme, bem como guiar terapêuticas personalizadas (Steinberg; Sebastiani, 2012). Como marcadores genéticos, as mutações que originaram os haplótipos predominam em regiões específicas da África e Ásia e possuem valor antropológico relacionado as rotas do tráfico negro, aos processos migratórios e a miscigenação (Pante-de-Sousa, 1999; Zago; Figueiredo; Ogo, 1992).

Dada a importância dos haplótipos para as características fenotípicas das pessoas com DF, o presente estudo buscou identificar os haplótipos beta-S e estabelecer a frequência destes em pessoas com anemia falciforme cadastradas no programa de doença falciforme localizado na cidade de Barreiras, Bahia, além de correlacionar com parâmetros hematológicos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

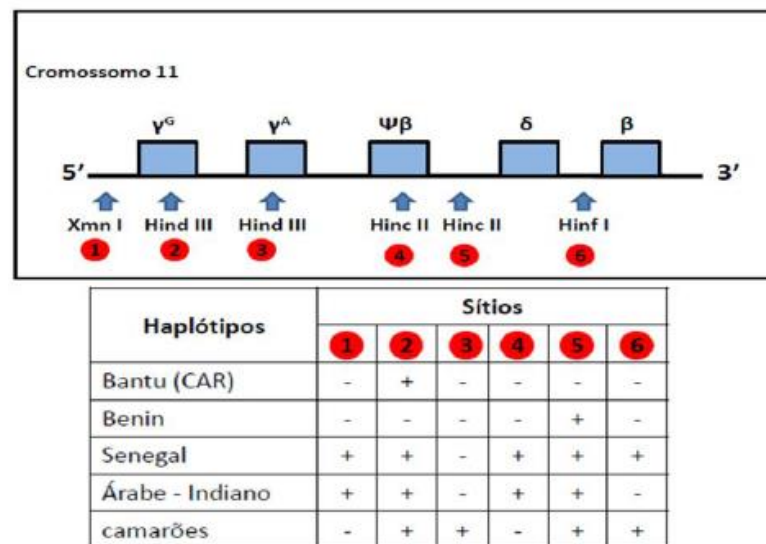
2.1. HAPLÓTIPOS DO GRUPAMENTO GÊNICO β^S

A anemia falciforme apresenta variações fenotípicas que não são justificadas exclusivamente pela mutação pontual que a origina e classifica. Fatores ambientais relacionam-se a essas variações, mas não justificam, em sua maioria, a grande heterogeneidade observada. Compreende-se que as diferenças genéticas, epigenéticas e bioquímicas são as que mais provavelmente representam essa grande variedade (Habara; Steinerg, 2016), e provavelmente os haplótipos β^S são um dos fatores genéticos relacionados.

Entende-se os haplótipos β^S como regiões de polimorfismo do grupamento de genes (*cluster*) da globina β^S que são reconhecidos por enzimas de restrição e fragmentados em sítios específicos (Menzel; Thein, 2018). Alguns autores utilizam a análise de seis sítios de

restrição, que compreende desde a região promotora até o início do gene beta, para classificar os haplótipos β^S . O sinal de mais (+) indica que há a presença do sítio de restrição para a enzima, o sinal de menos (-) indica que não há a presença do sítio de restrição. Sendo assim, cinco são os padrões de haplótipos identificados e nomeados de acordo com sua origem étnica, sendo eles: Bantu, Benin, Camarões, Senegal e Árabe-Indiano (Nagel; Fleming, 1992) (Figura 3).

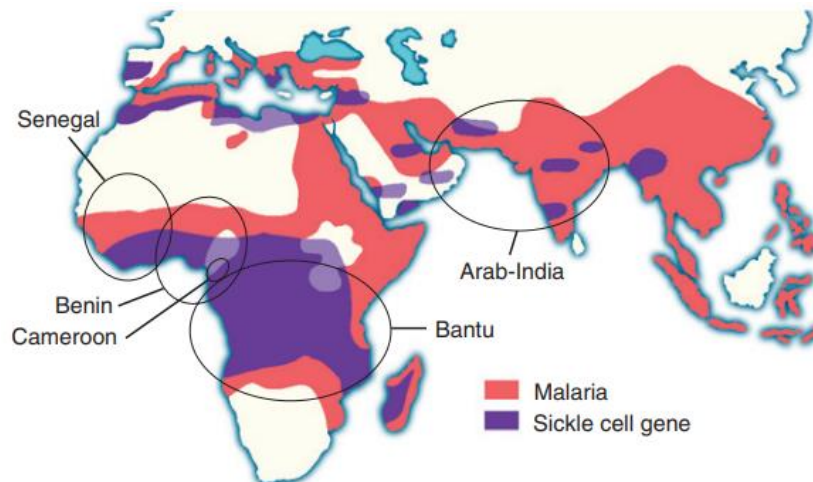
Figura 3 - Localização no cluster da beta-globina dos sítios de restrição analisados e padrão encontrado para os cinco haplótipos principais, enumerados com cada endonuclease utilizada (1 a 6). +: ocorrência de restrição pela endonuclease, -: ausência de sítio de restrição.



Fonte: Souza, 2020

Acredita-se que o haplótipo Bantu ou República Centro Africana (CAR) tem sua origem na África Oriental e Centro-Sul; o haplótipo Benin, na África Ocidental; Senegal na África Atlântico-Occidental, Camarões na Costa Ocidental Africana e Árabe-Indiano na Península Arábica e Sul da Ásia (Mears *et al.*, 1981; Pagnier *et al.*, 1984) (Figura 4). No Brasil, dada a miscigenação, é possível encontrar todos os haplótipos descritos, sendo os haplótipos Bantu e Benin aqueles que ocorrem com maior frequência (Costa; Conran; Fertrin, 2014).

Figura 4 - Regiões de alta frequência para o gene β^S superpostas a regiões endêmicas da Malária. As elipses representam as regiões de maior frequência dos haplótipos.



Fonte: Hebbel e Vercellotti, 2019.

Outros haplótipos são ainda descritos na literatura e classificados em um mesmo grupo como haplótipos atípicos. Identificam-se esses haplótipos por alterações no padrão dos sítios de restrição de modo que tais alterações não coincidem com os demais haplótipos listados. Essas são justificadas por diversos mecanismo genéticos que incluem mutações pontuais, conversão gênica e simples e dupla troca entre haplótipos (Zago *et al.*, 2000).

2.2. HAPLÓTIPO BANTU

Segundo Schroeder *et al.* (1989) os indivíduos com os haplótipos Bantu, quando infantes, passam por uma transição mais rápida da Hb F para a Hb S. Os níveis de Hb F mantêm-se reduzidos na idade adulta sendo os menores dentre os haplótipos. Comumente encontram-se valores inferiores a 5% para a Hb F. Os parâmetros hematológicos também não são favoráveis nesses indivíduos, correlaciona-se esse perfil a níveis reduzidos de hemoglobina e níveis elevados da desidrogenase láctica, o que sugere uma anemia hemolítica mais severa (Bernaudin *et al.*, 2018).

Clinicamente, percebe-se que os indivíduos com pelo menos um cromossomo com haplótipo Bantu possuem pior apresentação e evolução clínica. Observa-se um risco aumentado para AVE, doença pulmonar crônica, falência renal irreversível, úlceras nos membros inferiores, bem como outras formas de falência irreversível de órgãos (Powars, 1993).

Bandeira *et al.* (2014) avaliaram o estado de inflamação crônica em diferentes haplótipos na anemia falciforme. A homozigose dos haplótipos Bantu apresentou maiores níveis de Interleucina-6 e do Fator de Necrose Tumoral- α bem como uma manutenção desses níveis mesmo após o tratamento com a hidroxiureia indicando que relativo ao estado inflamatório crônico, o tratamento foi irresponsivo.

2.3. HAPLÓTIPO BENIN

A apresentação e evolução clínica dos pacientes com haplótipo Benin é, em alguns aspectos, bastante similar aos indivíduos com haplótipos Bantu. Essa está associada a riscos similares de Síndrome Torácica Aguda, crises de dor e taxas de infecção (Loggetto, 2013).

Apesar das similaridades algumas manifestações clínicas ainda são controversas. Estudos avaliando o risco de acidente vascular encefálico diferem nos resultados. Uma pesquisa com crianças egípcias concluiu que não há aumento estatisticamente significativo no risco de AVE com relação aos haplótipos (Abou-Elew *et al.*, 2018) apresentando resultado distinto de um outro estudo anterior com pacientes pediátricos brasileiros e estado-unidenses que associou o haplótipos Benin a um risco elevado de AVE (Mena, 2013). Tal discrepância ainda não é explicada, podendo ser atribuída a fatores ambientais ou genéticos das diferentes populações.

Powars (1993) classificou a homozigose do haplótipo Benin como um indicador de gravidade intermediário na anemia falciforme quando comparado aos haplótipos Bantu e Senegal. Os níveis de Hb F e a concentração de hemoglobina também foram classificados como intermediários. De forma geral, a Hb F média dos adultos com dupla homozigose para esse haplótipo encontra-se entre 6% e 11% a depender da origem da população estudada (Steinberg, 2020).

Bernaudin *et al.* (2018) associou a homozigose dos haplótipos Benin a uma melhor resposta ao tratamento com a hidroxiureia quando comparados a pacientes com homozigose para Bantu e Senegal. Variações positivas mais significativas nos valores de Hb F e Hb foram encontradas nesse grupo.

2.4. HAPLÓTIPO SENEGAL

Diversos indícios apontam que o haplótipo Senegal presente em homozigose ou heterozigose pode mitigar algumas apresentações clínicas das doenças falciforme. Um atraso de até vinte anos foi observado na manifestação de osteonecrose em pacientes com pelo menos um haplótipo Senegal, quando comparado a pacientes com haplótipos Bantu e Benin. Nota-se também que indivíduos com pelo menos um haplótipo Senegal e com níveis de Hb F superiores a 20% estão mais protegidos com relação a microvasculopatias e falência irreversível de órgãos (Powars, 1993).

2.5. HAPLÓTIPO CAMARÕES

O haplótipo Camarões, quanto aos níveis de Hb F na anemia falciforme, apresenta valores intermediários similares ao haplótipo Benin. Observa-se o nível médio de Hb F em torno de 10% sendo que esse valor é alterado negativamente quando em heterozigose com o haplótipo Benin e positivamente com o haplótipo Árabe-indiano. (Bhagat; Patra; Thakur, 2013).

Um estudo no Panamá com amostras de portadores de anemia falciforme demonstrou que os indivíduos com os haplótipos Camarões possuíam os menores níveis de reticulócitos dentre os cinco haplótipos mais comuns observados no estudo (Rusanova *et al.*, 2011). Tal observação aponta para taxas de hemólise reduzidas nesse grupo.

2.6. HAPLÓTIPO ÁRABE-INDIANO

O haplótipo Árabe-indiano, similar ao haplótipo Senegal, apresenta altos níveis de Hb F. Esses níveis são quase duas vezes superiores quando comparados aos demais haplótipos (Habara; Shaikho; Steinberg, 2017). Ngo *et al.* (2013) estabeleceu a média de Hb F para pacientes com anemia falciforme e homozigose do haplótipo Árabe-indiano em 19.2% com desvio padrão de 7.0%.

Italia *et al.* (2009) observaram uma melhora clínica significativa no tratamento com a hidroxiureia em indivíduos com o haplótipo Árabe-Indiano. Após o começo do tratamento 78% dos pacientes não tiveram mais crises vaso-oclusivas e 91% não precisaram mais de transfusão. Ademais, observou-se um aumento significativo nos níveis médios de hemoglobina, de Hb F e do volume corpuscular médio.

2.7. HAPLÓTIPO ATÍPICOS

Esses haplótipos, que diferem quanto ao padrão dos sítios de clivagem por endonucleases de restrição dos cinco haplótipos comuns, são chamados haplótipos atípicos. A maior parte das pesquisas indicam que os haplótipos atípicos não surgiram por mutação *de novo*, mas sim por mecanismos diversos associados aos haplótipos comuns (Zago *et al.*, 2000).

Estudos apontam para valores similares de ocorrência dos haplótipos atípicos em diferentes populações. Gonçalves *et al.* (2003) observou que em Salvador, dentre 160 cromossomos de pacientes com anemia falciforme analisados, 5,63% eram atípicos. No estado do Maranhão, um estudo com 56 cromossomos demonstrou uma frequência de 7,15% para esses haplótipos (Alves *et al.*, 2020). No Panamá, 11 de 200 cromossomos (5,5%) em pacientes com anemia falciforme eram haplótipos atípicos (Rusanova *et al.*, 2011). Esses valores reforçam o estipulado por Zago *et al.* (2000) para a frequência de haplótipos atípicos, em torno de 5% a 10%.

Poucos são os estudos detalhados a respeito das manifestações e evoluções clínicas dos haplótipos atípicos (Okumura *et al.*, 2019; Zago *et al.*, 2000). Nesse aspecto, destaca-se a pesquisa de Okumura *et al.* (2019) que classificou 11 haplótipos atípicos e estabeleceu que não havia diferença clínica estatisticamente significativa entre os haplótipos típicos e atípicos na população estudada no estado de São Paulo.

3. JUSTIFICATIVA

Estima-se que no Brasil cerca de 4% da população possui o traço falciforme e 60.000 a 100.000 são doentes falciformes. Calcula-se uma taxa de mortalidade de 2,68 a cada 1.000.000 habitantes e um custo anual associado às doenças falciforme de 1.6 bilhões de reais por ano (Silva-Pinto *et al.*, 2022). Nota-se também que apesar da relevância social e econômica dessas doenças, elas não possuem a devida prioridade nas políticas de saúde pública, configurando assim uma doença negligenciada (Mota; Trad; Dikomitis, 2022).

Depreende-se que o estudo das doenças falciforme se faz essencial para reverter esse aspecto de doença negligenciada, haja vista o fato de novos estudos difundirem as

informações sobre essas doenças e trazerem novas descobertas que podem guiar as políticas públicas.

Amplios estudos com os haplótipos demonstram que os parâmetros hematológicos, bem como a eficácia farmacológica dos tratamentos diferem de acordo com o haplótipo do indivíduo (Bernaudin *et al.*, 2018; Habara; Shaikho; Steinberg, 2017; Okumura *et al.*, 2016; Serjeant, 2022). Infere-se a importância do estudo e da identificação dos haplótipos para estabelecimento de um prognóstico acurado visando mitigar riscos associados ao tratamento inadequado ou iniciar o tratamento precoce com intuito de dirimir complicações futuras.

A identificação dos haplótipos e das regiões nas quais esses predominam permitiu questionar a origem de uma única mutação falciforme na África, assim como reafirmou o processo migratório (forçado e voluntário) africano (Bitoungui *et al.*, 2015). Os estudos com os haplótipos podem ser utilizados para entender o perfil genético do oeste da Bahia e, se diferente, permitem uma nova aproximação histórica e social da população brasileira, além de associar complicações clínicas com resposta terapêutica.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Caracterizar os haplótipos no cluster β -globina de pacientes diagnosticados com anemia falciforme em acompanhamento em um serviço de saúde na região oeste da Bahia.

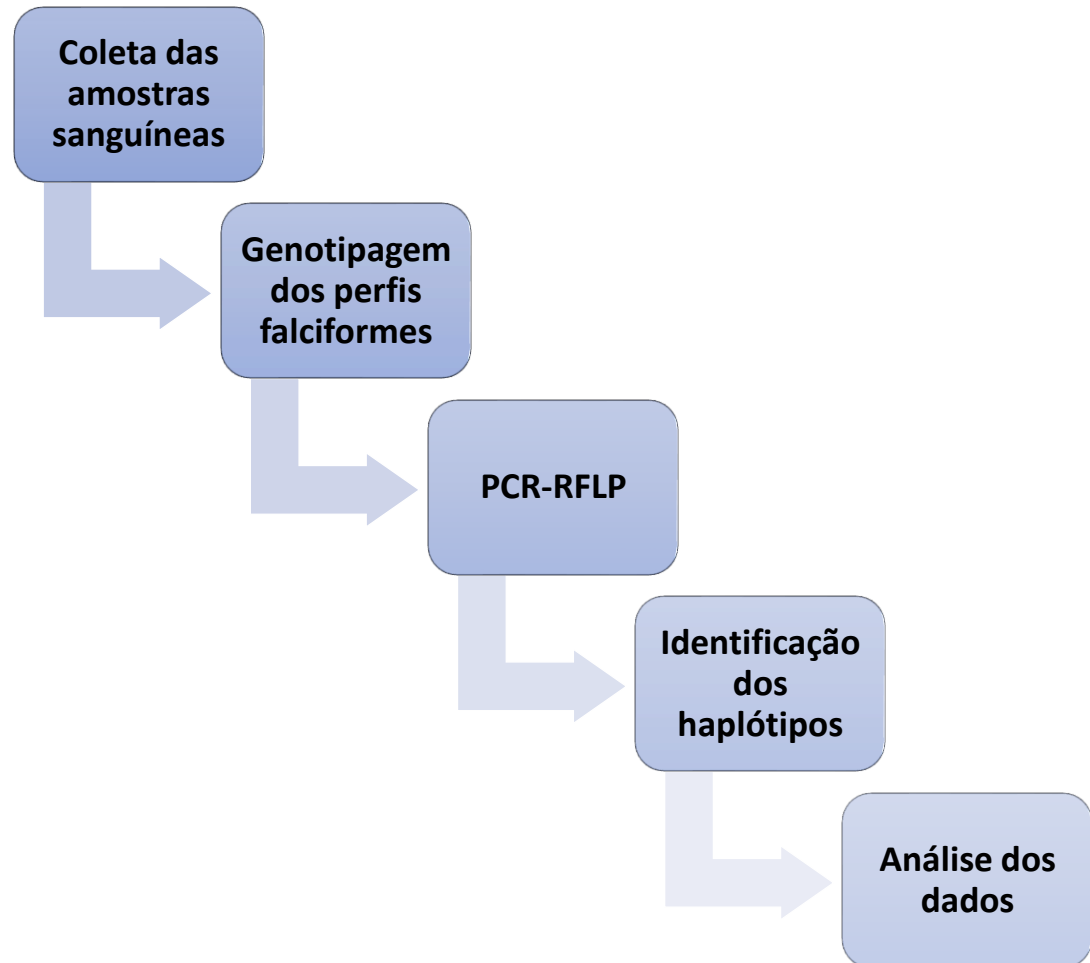
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar os haplótipos beta-S dos pacientes em acompanhamento.
- Estabelecer a frequência alélica e genotípica de cada haplótipo identificado.
- Propor a história de migração da população na região oeste da Bahia com base no perfil de haplótipos identificados.

5. METODOLOGIA

5.1. DESENHO DO ESTUDO

Figura 5 - Desenho do Estudo



Fonte: Elaboração própria

5.2. TIPO DE ESTUDO

O presente estudo refere-se a um estudo de associação, de corte transversal e de caráter qualitativo e quantitativo.

5.3. LOCAL DE PESQUISA

As amostras foram coletadas no Centro de Saúde Leonídia Ayres, localizado em Barreiras, Bahia. Esse é um centro de referência em atendimento de média complexidade, no qual é realizado o atendimento médico, acompanhamento e tratamento da Doença

Falciforme. Essas amostras foram direcionadas ao Laboratório de Agentes Infecciosos e Vetores (LAIVE) da Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB).

5.4. POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população estudada foi constituída por indivíduos com história clínica de doença falciforme em tratamento no Programa de Atenção à Pessoa com Doença Falciforme, da Secretaria de Municipal de Saúde de Barreiras, Bahia. Cerca de 54 amostras foram coletadas não sendo feitas distinções de etnia, classe social e orientação sexual. 42 amostras foram genotipadas HbSS (anemia falciforme) e 5 amostras foram removidas devido relações de consanguinidade. A coleta das amostras bem como a genotipagem dos perfis falciformes foi realizada por estudos em andamento no laboratório.

Seguindo o fluxo de atendimento adotado pelo programa, que consiste em atender por ordem de chegada, os pacientes que se sentem confortáveis a participar do projeto foram acompanhados até a sala de coleta de amostra, onde foram coletados 10mL de sangue, em tubo contendo EDTA como anticoagulante, pela profissional médica responsável pelo programa, após consentirem sua participação, confirmado pela leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecidos (TCLE), para maiores de 18 anos, termo de assentimento (TALE), para os menores de idade, assim como TCLE e TALE para biorrepositório. Os tubos, previamente identificados, foram acondicionados em gelo e encaminhados à UFOB para procedimentos. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa como descrito no item 5.8.

A amostra de 10mL de cada paciente foi centrifugada para separação de plasma, leucócitos e reticulócitos. Parte do sangue total foi estocado para manutenção do biorrepositório de amostras do projeto, assim como realização de perfil cromatográfico de hemoglobinas. Para este estudo, foi utilizado somente a alíquota de leucócitos para extração de DNA genômico total do paciente.

5.5. EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO TOTAL

A técnica para obtenção do DNA foi realizada por um protocolo modificado para a extração de DNA genômico total por Chelex 100 (Singh; Kumari; Iyengar, 2018). A princípio 200 µL da solução de estoque de Chelex 5% foram aquecidos por 10 minutos a 100°C. 500

μL de sangue total foram adicionados a solução de Chelex, os componentes foram então agitados no vórtex, aquecidos e posteriormente centrifugados em temperatura ambiente.

Na etapa de precipitação de proteínas, 500 μL da mistura foram transferidos para um novo recipiente e 250 μL de acetato de amônio 7,5M foram adicionados ao tubo. O recipiente descansou por 5min em gelo e seguiu para centrifugação por 10min e 720 μL do sobrenadante foram retirados.

Na etapa de precipitação do DNA, 80 μL de acetato de sódio 3M e 200 μL de etanol absoluto gelado foram adicionados. A solução foi agitada e colocada pra descansar por 4h a -30°C . Após esse período, esse recipiente foi centrifugado por 1h a 4°C . O sobrenadante foi descartado e a solução seguiu para 2 lavagens com etanol e 1 com isopropanol. Após secagem 10 μL de TE 1x foram adicionados e o recipiente foi incubado por 10min a 55°C . O material extraído foi estocado em -20°C .

5.6. INVESTIGAÇÃO DOS HAPLÓTIPOS β^S POR PCR-RFLP

A análise molecular e a identificação dos haplótipos seguiu o modelo proposto por Sutton, Bouhassira e Nagel (1989) bem como as adaptações e otimizações realizadas por Okumura (2017). A análise molecular foi realizada pelas técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase seguida de Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (PCR-RFLP). Foram avaliadas 6 regiões de interesses para a amplificação que compõe o perfil haplotípico β^S (Sutton; Bouhassira; Nagel, 1989) (Tabela 1).

Tabela 1 – Sequência dos pares de *primers* utilizados para amplificação de regiões haplotípicas do cluster β : localização referente ao cluster β no cromossomo 11 depositados no banco de dados NCBI (ID: U01317).
→: Sense, ←: Antisense

<i>Primer</i>	Sequência do <i>Primer</i>	Direção	Posição	Região
H0	AACTGTTGCTTTATAGGATTTT	→	33862	5' γ^G
H1	AGGAGCTTATTGATAACCTCAGAC	←	34518	
H2	AAGTGTGGAGTGTGCACATGA	→	36203	γ^G
H3	TGCTGCTAATGCTTCATTACAA	←	35422	
H3	TGCTGCTAATGCTTCATTACAA	→	40358	γ^A
H4	TAAATGAGGAGCATGCACACAC	←	41119	
H5	GAACAGAAGTTGAGATAGAGA	→	46426	$\Psi\beta$
H6	ACTCAGTGGTCTTGTGGGCT	←	47126	
H7	TCTGCATTTGACTCTGTTAGC	→	49476	3' $\Psi\beta$
H8	GGACCCTAACTGATATAACTA	←	50089	
H9	CTACGCTGACCTCATAAATG	→	60906	5' β
H10	CTAATCTGCAAGAGTGTCT	←	61291	

Fonte: Sutton, Bouhassira e Nagel, 1989

As condições e os componentes necessários para as reações de amplificação seguem o modelo proposto por Okumura (2017) de acordo com as enzimas de restrição e das regiões do fragmento de DNA respectivamente (Quadros 1 e 2). Estas especificações foram testadas, e ajustes no protocolo foram realizados para as condições de reação no laboratório. A exemplo, as concentrações de $MgCl_2$ foram reduzidas de 2mM para 1mM nas reações associadas às regiões de γ^G , γ^A e $\Psi\beta$, bem como as temperaturas de anelamento foram acrescidas em 5°C, 5°C e 2°C respectivamente.

Quadro 1 - Composição das reações utilizadas para amplificação das regiões polimórficas do cluster da globina β

Componentes	Volumes (μL)					
	XmnI (5' γ^G)	HindIII (γ^G)	HindIII (γ^A)	HincII ($\Psi\beta$)	HincII (3' $\Psi\beta$)	Hinf I (5' β)
H ₂ O	17,125	19,05	19,05	19,05	18,55	16,55
Tampão (10X)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
MgCl ₂ (50 mM)	1,25	0,5	0,5	0,5	1,0	1,25
dNTP (2 mM)	2,5	-	-	-	-	2,5
dNTP (10 mM)	-	0,75	0,75	0,75	0,75	-
Primer (10 μM)	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Primer (10 μM)	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Primer (25 μM)	0,25	-	-	-	-	-
Primer (25 μM)	0,25	-	-	-	-	-
Taq Pol (5U/ μL)	0,125	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
DNA (100 ng/ μL)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Volume Final (μL)	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0

Fonte: adaptado de Okumura, 2017

Quadro 2 - Condições das reações utilizadas para amplificação das regiões polimórficas do cluster da globina β

Desnaturação Inicial			35 Ciclos						Extensão Final	
			Desnaturação		Anelamento		Extensão			
Região	T(°C)	Tempo	T(°C)	Tempo	T(°C)	Tempo	T(°C)	Tempo	T(°C)	Tempo
5' γ^G	94	5'	94	45''	60	45''	72	1'30''	72	7'
γ^G	94	5'	94	30''	60	1'	72	1'	72	7'
γ^A	94	5'	94	30''	60	1'	72	1'	72	7'
$\Psi\beta$	94	5'	94	30''	57	1'	72	1'	72	7'
3' $\Psi\beta$	94	5'	94	30''	55	1'	72	1'	72	7'
5' β	94	5'	94	45''	57	45''	72	1'30''	72	7'

Fonte: adaptado de Okumura, 2017

Na segunda etapa ocorre a identificação dos haplótipos pela técnica de RFLP. Essa técnica consiste na detecção de sítios de polimorfismo por meio da utilização de uma enzima de restrição que reconhece e cliva uma sequência de nucleotídeos no DNA. Tal processo gera novos fragmentos de DNA que podem ser levados à visualização pela técnica de eletroforese (Hashim; Al-Shuhaib, 2019). Os sítios polimórficos, as enzimas de restrição a eles associadas e a classificação dos haplótipos quanto a presença (+) ou ausência (-) desses sítios seguem o trabalho de Sutton, Bouhassira e Nagel (1989) (Figura 3). Os haplótipos atípicos foram classificados de acordo com Okumura *et al.* (2019) (Tabela 2).

Tabela 2 - Classificação dos Haplótipos Atípicos.
- :ausência de restrição por endonucleases. +: ocorrência de restrição por endonuclease

Haplótipo	Região					
	5'γ ^G	γ ^G	γ ^A	ψβ	3'ψβ	5'β
Atípico 1	-	-	-	-	-	-
Atípico 2	-	-	-	-	+	+
Atípico 3	-	+	-	-	+	+
Atípico 4	-	-	-	-	-	+
Atípico 5	-	+	-	-	+	-
Atípico 6	-	+	+	-	+	-
Atípico 7	-	+	-	+	-	-
Atípico 8	-	+	-	+	+	+
Atípico 9	-	+	+	-	-	-
Atípico 10	+	+	-	+	-	-

Fonte: adaptado de Okumura *et al.*, 2019

Okumura (2017) descreveu os fragmentos de DNA esperados após a técnica de PCR bem como os fragmentos após digestão pelas endonucleases de restrição pela técnica de RFLP (Tabela 3). Essa descrição permitiu a análise do resultado da eletroforese em gel de agarose e consequente identificação dos haplótipos.

Tabela 3 - Tamanho dos produtos amplificados e após a clivagem com as endonucleases de restrição

<i>Primers</i>	<i>Enzima</i>	<i>Região</i>	<i>Tamanho Fragmento</i>	<i>Fragmentos Após Clivagem</i>
H0 e H1	<i>XmnI</i>	5'γ ^G	650 pb	450 pb + 200 pb
H2 e H3	<i>HindIII</i>	γ ^G	780 pb	430 pb + 340 pb + 10 pb
H3 e H4	<i>HindIII</i>	γ ^A	760 pb	400 pb + 360 pb
H5 e H6	<i>HincII</i>	Ψβ	701 pb	360 pb + 340 pb + 1 pb
H7 e H8	<i>HincII</i>	3'ψβ	590 pb	470 pb + 120 pb
H9 e H10	<i>HinfI</i>	5'β	380 pb	240 pb + 140 pb

Fonte: Okumura, 2017

5.7. ANÁLISE DE DADOS

Para avaliação de dados de frequência cromossômica e genotípica dos haplótipos foram utilizados teste de qui-quadrado de aderência, de Pearson e exato de Fisher. O nível de significância utilizado em todos os testes foi de 5% e o analisados utilizando o programa estatístico STATISTICA 8.0 (StatSoft).

5.8. ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS (RESOLUÇÃO 466/12)

Este projeto de pesquisa está vinculado ao projeto “Investigação de agravos da população negra do Oeste baiano e do vale são franciscano da Bahia: padrões genéticos, bioquímicos e sociodemográficos das pessoas com doença falciforme na região de Barreiras”, registrado e aprovado por Comitê de Ética e Pesquisa com número CAAE: 29075620.6.0000.5026.

6. RESULTADOS

6.1. CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DOS HAPLÓTIPOS TÍPICOS

Neste estudo, foram coletadas 54 amostras de pacientes com doença falciforme. Dessas, 42 possuíam o genótipo HbSS (anemia falciforme). Cinco amostras foram retiradas

devido relações de consanguinidades. As 37 amostras restantes foram avaliadas nessa pesquisa. A média de idade dos pacientes foi de 26,16 anos \pm 11,948 (desvio padrão). Vinte e dois (22) pacientes são do sexo feminino e 15 do sexo masculino.

Quanto aos haplótipos, dos 37 pacientes, dezesseis (43,24%) eram heterozigotos, apresentando os haplótipos CAR/BEN, quatorze (37,84%) eram CAR/CAR e sete (18,92%) BEN/BEN. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre as frequências dos genótipos identificados (χ^2 de aderência = 3,6; $p = 0,16$). Nenhum outro haplótipo típico ou algum haplótipo atípico foi identificado neste estudo. Os resultados foram então comparados com outros estudos realizados no Brasil. As frequências alélicas relativas de cada haplótipo podem ser encontrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Frequência alélica dos haplótipos pelo total de cromossomos analisados encontrados no presente estudo e em outros trabalhos.

*: número de cromossomos analisados. ** Exato de Fisher. Valores em negrito: estatisticamente significativo. Os dados foram avaliados somente considerando cromossomos CAR e BEN por terem sido os únicos identificados neste estudo.

Estado	n*	CAR	BEN	SEN	CAM	ARB	ATP	p**	Referências
Bahia	74	59.46	40.54	–	–	–	–		Presente estudo
Bahia	250	41.60	55.20	0.40	1.20	0.40	1.20	0,019	(Adorno <i>et al.</i> , 2008)
Bahia	282	45.04	47.87	–	–	–	7.09	>0,05	(Aleluia <i>et al.</i> , 2017)
Bahia	72	48.60	51.40	–	–	–	–	>0,05	(Costa <i>et al.</i> , 1994)
Bahia	70	48.57	48.57	–	–	–	2.86	>0,05	(Lyra <i>et al.</i> , 2005)
Bahia	34	32.35	52.95	–	2.94	–	11.76	>0,05	(Silva; Klautau-Guimarães; Grisolia, 2010)
Ceará	44	31.82	43.18	2.27	–	–	22.73	>0,05	(Galiza Neto <i>et al.</i> , 2005)
Ceará	68	66.18	22.06	–	–	–	11.76	>0,05	(Brito da Silva <i>et al.</i> , 2009)
Maranhão	56	64.28	28.57	–	–	–	7.15	>0,05	(Alves <i>et al.</i> , 2020)
Minas Gerais	412	57.03	41.50	–	–	0.50	0.97	>0,05	(Belisário <i>et al.</i> , 2010)
Minas Gerais	122	64.75	22.13	–	0.82	–	12.30	0,048	(Leal; Martins; Balarin, 2015)
Pará	260	66.00	21.80	10.90	1.30	–	–	0,015	(Cardoso; Guerreiro, 2006)
Pará	60	66.70	30.00	3.30	–	–	–	>0,05	(Pante-de-Sousa <i>et al.</i> , 1998)
Paraná	34	61.77	32.35	–	–	–	5.88	>0,05	(Shimauti <i>et al.</i> , 2015)
Paraná	100	76.00	17.50	0.50	0.50	–	5.50	0,003	(Watanabe <i>et al.</i> , 2017)
Rio de Janeiro	148	54.00	44.60	1.40	–	–	–	>0,05	(Fleury, 2001)
Rio de Janeiro	1054	72.96	20.30	0.19	0.57	0.28	5.70	0,0004	(Okumura; Lobo; Bonini-Domingos, 2013)
Rio de Janeiro	1200	73.20	19.90	0.30	0.60	0.30	5.70	0,0002	(Okumura <i>et al.</i> , 2019)
Rio Grande do Norte	94	75.50	12.80	–	6.40	–	5.30	0,0005	(Cabral <i>et al.</i> , 2011)

Rio Grande do Norte	106	75.50	11.30	–	6.60	–	6.60	0,0001	(Cabral, 2010)
Rio Grande do Sul	220	67.30	25.00	0.50	0.90	–	6.40	0,045	(Lindenau <i>et al.</i> , 2016)
São Paulo	74	60.81	36.49	–	–	–	2.7	>0,05	(Costa <i>et al.</i> , 1994)
São Paulo	170	61.76	34.71	–	–	–	3.53	>0,05	(Figueiredo <i>et al.</i> , 1996)
São Paulo	148	62.17	33.78	–	–	–	4.05	>0,05	(Gonçalves <i>et al.</i> , 1994)
São Paulo	56	55.36	33.93	–	–	–	10.71	>0,05	(Lyra <i>et al.</i> , 2005)
São Paulo	74	66.22	22.97	1.35	–	–	9.46	>0,05	(Zago; Figueiredo; Ogo, 1992)

Fonte: Elaboração própria.

Dentre os estudos de outros autores apresentados na Tabela 4 apenas 8 apresentaram diferença estatisticamente relevante quanto as frequências alélicas dos haplótipos em relação ao presente estudo. O estudo de Adorno *et al.* (2008) foi o único realizado na Bahia que apresentou um número maior de haplótipo BEN estatisticamente significativo ($p = 0.019$). Os demais estudos diferiram por apresentar frequência de haplótipo CAR estatisticamente superior ao presente estudo. Não foi encontrada diferença significativa entre os cromossomos CAR e BEN no presente estudo (χ^2 de aderência = 2,28, $p = 0,13$).

7. DISCUSSÃO

Os achados deste estudo corroboram parcialmente os dados atuais sobre a frequência de haplótipos β^S e estão em concordância com a documentação histórica referente ao comércio transatlântico de escravos e às origens demográficas da população brasileira. A análise de registros relacionados ao comércio transatlântico de escravos, abrangendo os séculos XVI ao XIX, revela um padrão marcante. A maioria dos indivíduos sujeitos à escravidão e posteriormente transportados para o Brasil originaram-se de regiões geográficas conhecidas (Figura 8). Notavelmente, uma proporção substancial desses indivíduos vinha da África Central. Além disso, outras regiões fontes cruciais abrangiam a extensão costeira que se estendia do Senegal contemporâneo ao Gabão e a Costa Leste (Parés, 2018).

ambos os casos esses valores somente se concretizariam a partir das últimas décadas do século XVII.

Até o final do século XVII e o início do século XVIII, uma predileção semelhante por indivíduos da África Central era evidente nos portos do Nordeste e Sudeste do Brasil. No entanto, vários fatores, como uma epidemia de varíola em regiões da África Central, conflitos políticos envolvendo os holandeses, conflitos internos na África e as preferências dos comerciantes de escravos, redirecionaram seu foco para o Golfo de Benim, particularmente a região da Costa da Mina (Figura 9), uma área conhecida por eles desde o início do século XVI (Silva Jr., 2016).

Figura 7 - Costa da Mina, final do século XVII

Regiões de exportação colonial nomeadas de acordo com as principais exportações: Malagueta, Marfim, Escravos e Ouro. Essa última foi inicialmente chamada de Costa da Mina e incorporava as regiões da atual Gana a Nigéria.



Fonte: Silva Jr., 2016

A região da Costa da Mina era composta pela Costa do Ouro e pela Costa dos Escravos. Esta última englobava o Togo, Benin e partes da Gana e da Nigéria (Ribeiro da Silva, 2017). Comparável à frequência de haplótipos previamente examinada na Angola, as

áreas localizadas dentro da Costa dos Escravos são reconhecidas pela prevalência pronunciada do haplótipo Benin (Esoh; Wonkam, 2021). Essas observações históricas novamente reafirmam e estão alinhadas com as informações apresentadas na Tabela 4.

A presença dos haplótipos do Senegal e de Camarões no Brasil também não surpreende. Como mencionado anteriormente, a região que se estende do atual Senegal ao atual Gabão teve uma importância significativa no contexto do comércio de escravos. Enquanto o Senegal está na região costeira atlântica mais ao norte da África, Camarões está próximo ao Golfo da Guiné e acima do Gabão. A Rota da Guiné foi um importante trajeto do tráfico negreiro. Estima-se que 188400 indivíduos escravizados eram provenientes da Senegâmbia e do Golfo da Guiné (Alencastro, 2018). Apesar da sua ocorrência no país, estes haplótipos não foram identificados neste estudo.

Destaca-se que o haplótipo árabe-indiano está presente no Brasil, embora em uma frequência menor se comparado aos outros haplótipos típicos. A causa precisa dessa frequência permanece ambígua, pois poderia ser atribuída a migrações recentes ou antigas. Uma explicação possível está relacionada ao tráfico negreiro em regiões da África com presença do haplótipo ARB. Veten e colaboradores (2012) revelou uma prevalência de 5,6% do haplótipo árabe-indiano na Mauritânia, um país situado em uma região historicamente reconhecida por sua importância na consolidação das rotas iniciais do comércio de escravos (Ribeiro da Silva, 2017).

Uma explicação alternativa para a presença do haplótipo ARB no Brasil, ainda que reduzida, poderia estar associada a migrações mais recentes. A dissolução do Império Otomano, seguida de instabilidade econômica, provocou um influxo de indivíduos do Líbano e da Síria para o Brasil no começo do século XX. Estudos anteriores nesses países indicaram frequências do haplótipo ARB de 10% (Inati *et al.*, 2003) e 33,3% (Rahimi *et al.*, 2003), respectivamente.

Significativamente, nesta pesquisa, deve-se considerar as diferenças históricas referentes à formação de Barreiras. Inicialmente, é importante observar que Barreiras nem sempre fez parte do estado da Bahia. A região onde Barreiras está situada costumava fazer parte da Comarca do São Francisco. Essa região, a oeste do rio São Francisco, pertencia originalmente a Pernambuco até que D. Pedro I, como punição pelo movimento

revolucionário da Confederação do Equador, separou esse território e o concedeu a Minas Gerais e, posteriormente, à Bahia, em 1827 (Sica, 2019).

É importante notar que Pernambuco não seguiu as mesmas dinâmicas relativa ao tráfico de escravos que a Bahia; uma mudança significativa foi observada no comércio de escravos em Pernambuco devido a leis e restrições que tornaram mais difícil o comércio com a Costa da Mina na primeira metade do século XVIII. Isso levou os negociantes de escravos a aumentarem novamente seus negócios com os portos da África Central (Almeida, 2018). É improvável, no entanto, que as migrações antigas tenham tido contribuições significativas para a dinâmica populacional atual da cidade de Barreiras, uma vez que esta se tornou oficialmente uma cidade somente em 1891 e, em 1902, possuía uma população estimada em 2.500 habitantes (Ferreira, 1958).

Migrações recentes possivelmente apresentam uma maior importância na composição da população barreirense. A exemplo, de 1980 a 1990, o oeste da Bahia foi enfoque de programas financeiros e de desenvolvimento como o Programa de Ocupação Econômica do Oeste, o Programa de Cooperação Nipo-Brasileiro para o Desenvolvimento Agrícola dos Cerrados (PRODECER II) e o Programa de Desenvolvimento Econômico e Social do Oeste. A esses programas é atribuída a atração de um significativo fluxo de migrantes do sul para as regiões do oeste baiano (Caribé, 2008). É possível perceber na Tabela 4 que a região Sul possui uma proporção significativa do haplótipo CAR e isso pode ter influenciado no fluxo gênico e dinâmica populacional dessa região.

Embora a migração sulista possa ter desempenhado um papel importante na formação inicial do território de Barreiras, é improvável que tenha exercido um impacto significativo nos haplótipos β^S , uma vez que se tratou de um movimento migratório curto e pontual que não se reflete no atual fluxo migratório. Uma influência mais provável nos haplótipos β^S são as migrações intrarregionais, pois, conforme o censo demográfico de 2010, dos migrantes que se dirigiram a Barreiras, 125.435 (91,27%) eram da região Nordeste e apenas 2.823 (2,05%) do Sul (IBGE, 2010). Ressalta-se, no entanto, que este estudo não se propõe a avaliar precisamente os impactos dos migrantes na composição genética da população.

8. CONCLUSÃO

Foi possível caracterizar as amostras dos participantes dentro de dois dos cinco principais grupos de haplótipos típicos. Todos os indivíduos que participaram do estudo pertenciam aos haplótipos Bantu (CAR) ou Benin (BEN) em homozigose ou heterozigose, o que permite inferir fluxo gênico entre os descendentes das populações africanas submetidas à escravidão. Os haplótipos identificados alinham-se com a história de migrações históricas e a formação de origem africana da população brasileira.

Nenhum haplótipo SEN, CAM, ARB ou ATP foi identificado. Considerando a formação recente da região Oeste da Bahia, especialmente de Barreiras, uma possível explicação para a falta de diversidade poderia ser devido a uma baixa taxa de migração de regiões nas quais haplótipos distintos são mais frequentes. Estes dados também podem estar sendo influenciados pelo número de participantes no estudo.

9. REFERÊNCIAS

ABOU-ELEW, Heba H. *et al.* β S globin gene haplotype and the stroke risk among Egyptian children with sickle cell disease. **Hematology (Amsterdam, Netherlands)**, [s. l.], v. 23, n. 6, p. 362–367, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29157167/>. Acesso em: 24 out. 2022.

ADORNO, Elisângela Vitória *et al.* Clinical and molecular characteristics of sickle cell anemia in the northeast of Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 621–625, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/gmb/a/jRg5NSPpfWm9p8qvhH5XPPK/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

ALELUIA, Milena Magalhães *et al.* Comparative study of sickle cell anemia and hemoglobin SC disease: clinical characterization, laboratory biomarkers and genetic profiles. **BMC Hematology**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 15, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28932402/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

ALENCASTRO, Luiz Felipe de. África, números do tráfico atlântico. *In*: SCHWARCZ, Lilia Moritz; GOMES, Flávio (org.). **Dicionário da Escravidão e Liberdade: 50 textos críticos**. São Paulo: Companhia das Letras, 2018. p. 57–63.

ALMEIDA, Suelly Cordeiro de. Rotas Atlânticas: o comércio de escravos entre Pernambuco e a Costa da Mina (c.1724-c.1752). **História (São Paulo)**, [s. l.], v. 37, 2018. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/17197>. Acesso em: 2 dez. 2023.

ALVES, Ademilton Costa *et al.* Sickle cell anemia in the state of Maranhão: a haplotype study. **Annals of Hematology**, [s. l.], v. 99, n. 6, p. 1225–1230, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32363415/>. Acesso em: 24 out. 2022.

BANDEIRA, Izabel C.J. *et al.* Chronic inflammatory state in sickle cell anemia patients is associated with

HBB*S haplotype. **Cytokine**, [s. l.], v. 65, n. 2, p. 217–221, 2014.

BELISÁRIO, André Rolim *et al.* β -Globin Gene Cluster Haplotypes in a Cohort of 221 Children with Sickle Cell Anemia or S β ⁰-Thalassemia and Their Association with Clinical and Hematological Features. **Acta Haematologica**, [s. l.], v. 124, n. 3, p. 162–170, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20938172/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

BERNAUDIN, Françoise *et al.* Biological impact of α genes, β haplotypes, and G6PD activity in sickle cell anemia at baseline and with hydroxyurea. **Blood Advances**, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 626–637, 2018. Disponível em: <https://ashpublications.org/bloodadvances/article/2/6/626/15790/Biological-impact-of-alpha-genes-beta-haplotypes-and-G6PD>. Acesso em: 31 out. 2022.

BHAGAT, Sanjana; PATRA, Pradeep Kumar; THAKUR, Amar Singh. Fetal Haemoglobin and β -globin Gene Cluster Haplotypes among Sickle Cell Patients in Chhattisgarh. **JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 269, 2013. Disponível em: </pmc/articles/PMC3592290/>. Acesso em: 31 out. 2022.

BORGES, Eliana *et al.* Unusual β -Globin Haplotype Distribution in Newborns from Bengo, Angola. **Hemoglobin**, [s. l.], v. 43, n. 3, p. 149–154, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31394941/>. Acesso em: 20 nov. 2023.

BRITO DA SILVA, Lilianne *et al.* Análise dos haplótipos da anemia falciforme em Fortaleza revela as origens étnicas da população cearense. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 115–118, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442009000200005&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 25 out. 2022.

CABRAL, Cynthia Hatsue Kitayama. Determinação de haplótipos do gene beta S em pacientes com anemia falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 32, n. 6, p. 491–492, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/FFbcXnSqHbCKnjwMyQtnktJ/?lang=pt>. Acesso em: 13 nov. 2023.

CABRAL, Cynthia Hatsue Kitayama *et al.* Determination of β S haplotypes in patients with sickle-cell anemia in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 421–424, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/gmb/a/B4mKcRdJTdz3NTrvyBWGh4x/abstract/?lang=en>. Acesso em: 13 nov. 2023.

CARDOSO, Greice Lemos; GUERREIRO, João Farias. African gene flow to north Brazil as revealed by HBB*S gene haplotype analysis. **American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 93–8, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16378338/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

CARIBÉ, Clóvis. Os cerrados da Bahia sob a lógica do capital. **Revista Ideas - Interfaces em Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 76–108, 2008. Disponível em: <https://revistaideas.ufrj.br/ojs/index.php/ideas/article/view/26>. Acesso em: 28 nov. 2023.

COSTA, F. F. *et al.* β S -gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia patients from two regions of Brazil.

American Journal of Hematology, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 96–97, 1994. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8250018/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

COSTA, Fernando Ferreira; CONRAN, Nicola; FERTRIN, Kleber Yotsumoto. Anemia Falciforme. *In*:

ZAGO, Marco Antonio; FALCÃO, Roberto Passetto; PASQUINI, Ricardo (org.). **Tratado de Hematologia**. São Paulo: Atheneu, 2014. p. 205–223.

DARBARI, Deepika S.; SHEEHAN, Vivien A.; BALLAS, Samir K. The vaso-occlusive pain crisis in sickle cell disease: Definition, pathophysiology, and management. **European Journal of Haematology**, [s. l.], v. 105, n. 3, p. 237–246, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ejh.13430>. Acesso em: 27 nov. 2022.

DELGADINHO, Mariana *et al.* Genotypic Diversity among Angolan Children with Sickle Cell Anemia. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s. l.], v. 18, n. 10, p. 5417, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34069401/>. Acesso em: 20 nov. 2023.

EATON, William A.; BUNN, H. Franklin. Treating sickle cell disease by targeting HbS polymerization. **Blood**, [s. l.], v. 129, n. 20, p. 2719–2726, 2017. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article/129/20/2719/36133/Treating-sickle-cell-disease-by-targeting-HbS>. Acesso em: 27 nov. 2022.

ELTIS, David; RICHARDSON, David. **Atlas of the Transatlantic Slave Trade**. [S. l.]: Yale University Press, 2017-. ISSN 0843-8714.v. 23

ESOH, Kevin; WONKAM, Ambrose. Evolutionary history of sickle-cell mutation: implications for global genetic medicine. **Human Molecular Genetics**, [s. l.], v. 30, n. R1, p. R119–R128, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33461216/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

FERREIRA, Jurandy Pires. **Enciclopédia dos municípios brasileiros**. 20. ed. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1958.

FERRONE, Frank A.; HOFRICHTER, James; EATON, William A. Kinetics of sickle hemoglobin polymerization: II. A double nucleation mechanism. **Journal of Molecular Biology**, [s. l.], v. 183, n. 4, p. 611–631, 1985.

FIGUEIREDO, M. S. *et al.* Effect of alpha-thalassemia and beta-globin gene cluster haplotypes on the hematological and clinical features of sickle-cell anemia in Brazil. **American journal of hematology**, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 72–6, 1996. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

FLEURY, Marcos K. Determinação dos haplótipos do gene da globina beta em pacientes com anemia falciforme do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 57–58, 2001. Disponível em: <http://sbac.org.br/rbac/007/91.pdf>. Acesso em: 13 nov. 2023.

GALIZA NETO, Gentil Claudino de *et al.* Análise dos haplótipos do gene da betaS-globina no Ceará. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s. l.], v. 41, n. 5, p. 315–321, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpml/a/Xb49vCzpwBmJ9qDDqGfjSPz/?lang=pt>. Acesso em: 13 nov. 2023.

GHATGE, Mohini S. *et al.* Crystal structure of carbonmonoxy sickle hemoglobin in R-state conformation. **Journal of Structural Biology**, [s. l.], v. 194, n. 3, p. 446–450, 2016. Disponível em: [/pmc/articles/PMC4859812/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27111112/). Acesso em: 27 nov. 2022.

GONÇALVES, M S *et al.* Sickle cell disease in a Brazilian population from Sao Paulo: a study of the beta s haplotypes. **Human heredity**, [s. l.], v. 44, n. 6, p. 322–7, 1994. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7860085/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

GONÇALVES, Mari S. *et al.* β S-Haplotypes in sickle cell anemia patients from Salvador, Bahia, Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s. l.], v. 36, n. 10, p. 1283–1288, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/bjmbmr/a/9WpK5dgWdyB7Mr5t7PvTp8h/?lang=en>. Acesso em: 18 nov. 2022.

HABARA, Alawi H.; SHAIKHO, Elmutaz M.; STEINBERG, Martin H. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: The Arab-Indian haplotype and new therapeutic agents. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 92, n. 11, p. 1233–1242, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28736939/>. Acesso em: 24 out. 2022.

HABARA, Alawi; STEINBERG, Martin H. Minireview: Genetic basis of heterogeneity and severity in sickle cell disease. **Experimental Biology and Medicine**, [s. l.], v. 241, n. 7, p. 689–696, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26936084/>. Acesso em: 17 nov. 2022.

HASHIM, Hayder O.; AL-SHUHAIB, Mohammed Baqur. Exploring the Potential and Limitations of PCR-RFLP and PCR-SSCP for SNP Detection: A Review. **Journal of Applied Biotechnology Reports**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 137–144, 2019. Disponível em: http://www.biotechrep.ir/article_100740.html. Acesso em: 20 nov. 2022.

HEBBEL, Robert P.; VERCELLOTTI, Gregory M. Pathobiology of Sickle Cell Disease. *In*: HEMATOLOGY BASIC PRINCIPLES AND PRACTICE. 7. ed. [S. l.]: Elsevier Ltd, 2019. p. 571–583.

IFEANYI, Obeagu Emmanuel. Erythropoeitin in Sickle Cell Anaemia: A Review. **International Journal of Research Studies in Medical and Health Sciences**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 22–28, 2020. Disponível em: <https://www.ijrsmhs.com/pdf/v5-i2/4.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2022.

INATI, A. *et al.* β -Globin gene cluster haplotypes and HbF levels are not the only modulators of sickle cell disease in Lebanon. **European Journal of Haematology**, [s. l.], v. 70, n. 2, p. 79–83, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12581188/>. Acesso em: 26 nov. 2023.

INUSA, Baba *et al.* Sickle Cell Disease—Genetics, Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatment. **International Journal of Neonatal Screening**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 20, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067361061029X>.

ITALIA, K *et al.* Hydroxyurea in sickle cell disease—A study of clinico-pharmacological efficacy in the Indian haplotype. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, [s. l.], v. 42, n. 1, p. 25–31, 2009. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1079979608001769>. Acesso em: 30 out. 2022.

KAPOOR, Sargam; LITTLE, Jane A.; PECKER, Lydia H. Advances in the Treatment of Sickle Cell Disease. **Mayo Clinic Proceedings**, [s. l.], v. 93, n. 12, p. 1810–1824, 2018. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619618305858>. Acesso em: 27 nov. 2022.

LEAL, Alexandra Silva; MARTINS, Paulo Roberto Juliano; BALARIN, Marly Aparecida Spadotto. Haplotype of the β S-globin cluster in patients with sickle cell anemia at a University Hospital in the Triângulo Mineiro, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 140–141, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/CCZXynPKTLhrKNd5Zybwxxq/?lang=en>. Acesso em: 13 nov. 2023.

LI, Xuejin *et al.* Biomechanics and biorheology of red blood cells in sickle cell anemia. **Journal of Biomechanics**, [s. l.], v. 50, p. 34–41, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27876368/>. Acesso em: 27 nov. 2022.

LINDENAU, Juliana D. *et al.* The effects of old and recent migration waves in the distribution of HBB*S globin gene haplotypes. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 515–523, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27706371/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

LOGGETTO, Sandra Regina. Sickle cell anemia: clinical diversity and beta S-globin haplotypes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 155, 2013. Disponível em: </pmc/articles/PMC3728122/>. Acesso em: 24 out. 2022.

LYRA, Isa Menezes *et al.* Clinical, hematological, and molecular characterization of sickle cell anemia pediatric patients from two different cities in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 1287–1290, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/ymYbgswvJtytwgkzh9QLfR/?lang=en>. Acesso em: 13 nov. 2023.

MEARS, J. G. *et al.* Sickle gene. Its origin and diffusion from West Africa. **The Journal of clinical investigation**, [s. l.], v. 68, n. 3, p. 606–610, 1981. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6268660/>. Acesso em: 17 nov. 2022.

MENAA, Farid. Stroke in sickle cell anemia patients: A need for multidisciplinary approaches. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 229, n. 2, p. 496–503, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23746538/>. Acesso em: 18 nov. 2022.

MENZEL, Stephan; THEIN, Swee Lay. Genetic Modifiers of Fetal Haemoglobin in Sickle Cell Disease. **Molecular Diagnosis & Therapy** 2018 23:2, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 235–244, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40291-018-0370-8>. Acesso em: 27 nov. 2022.

MOTA, Clarice; TRAD, Leny A B; DIKOMITIS, Lisa. Sickle Cell Disease in Bahia, Brazil: The Social Production of Health Policies and Institutional Neglect. **Societies**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 108, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4698/12/4/108/htm>. Acesso em: 24 out. 2022.

NAGEL, Ronald L.; FLEMING, Alan F. Genetic epidemiology of the β s gene. **Baillière's Clinical Haematology**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 331–365, 1992. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0950353611800235>. Acesso em: 18 nov. 2022.

NGO, Duyen *et al.* Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: Genetic studies of the Arab-Indian haplotype. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 22–26, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1079979612002367>. Acesso em: 23 nov. 2022.

OKUMURA, Jéssika V. *et al.* Atypical β -S haplotypes: classification and genetic modulation in patients with sickle cell anemia. **Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 64, n. 3, p. 239–248, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s10038-018-0554-4>.

OKUMURA, Jéssika V *et al.* Inheritance of the Bantu/Benin haplotype causes less severe hemolytic and oxidative stress in sickle cell anemia patients treated with hydroxycarbamide. **Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 61, n. 7, p. 605–611, 2016. Disponível em: www.nature.com/jhg.

OKUMURA, Jéssika Viviani [UNESP]. **Perfil fenotípico de gravidade na doença falciforme: interação gênica e/ou características intrínsecas da manifestação clínica?** 2017. 177 f. - Universidade Estadual Paulista (Unesp), [s. l.], 2017. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/149880>. Acesso em: 27 nov. 2023.

OKUMURA, Jéssika Viviani; LOBO, Clarisse Lopes de Castro; BONINI-DOMINGOS, Claudia Regina. Beta-S globin haplotypes in patients with sickle cell anemia: one approach to understand the diversity in Brazil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 71–72, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/rbhh/a/dJSGXKmg9vhqGsK64mPyrjj/?lang=en>. Acesso em: 25 out. 2022.

PAGNIER, J. *et al.* Evidence for the multicentric origin of the sickle cell hemoglobin gene in Africa. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 81, n. 6 I, p. 1771–1773, 1984. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6584911/>. Acesso em: 17 nov. 2022.

PANTE-DE-SOUSA, Gabriella *et al.* Origin of the hemoglobin S gene in a northern Brazilian population: the combined effects of slave trade and internal migrations. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 427–430, 1998. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/gmb/a/QVJGmyLT5XNdZLSyRNQWXjG/?lang=en>. Acesso em: 13 nov. 2023.

PANTE-DE-SOUSA, Gabriella; MOUSINHO-RIBEIRO. beta-globin haplotypes analysis in Afro-Brazilians from the Amazon region: evidence for a significant gene flow from Atlantic West Africa. **Annals of Human Biology**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 365–373, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10462156/>. Acesso em: 18 nov. 2022.

PAPAGEORGIU, Dimitrios P. *et al.* Simultaneous polymerization and adhesion under hypoxia in sickle cell disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 115, n. 38, p. 9473–9478, 2018. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1807405115>. Acesso em: 27 nov. 2022.

PARÉS, Luis Nicolau. Africanos Ocidentais. In: SCHWARCZ, Lilia Moritz; GOMES, Flávio (org.). **Escravidão e Liberdade: 50 textos críticos**. São Paulo: Companhia das Letras, 2018. p. 77–79.
PIEL, Frédéric B.; STEINBERG, Martin H.; REES, David C. Sickle Cell Disease. **New England Journal of**

Medicine, [s. l.], v. 376, n. 16, p. 1561–1573, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28423290/>. Acesso em: 23 nov. 2022.

POWARS, Darleen. Sickle Cell Anemia. **American Journal of Diseases of Children**, [s. l.], v. 147, n. 11, p. 1197, 1993. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamapediatrics/fullarticle/516928>. Acesso em: 18 nov. 2022.

RAHIMI, Z. *et al.* β -Globin Gene Cluster Haplotypes in Sickle Cell Patients From Southwest Iran. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 74, n. 3, p. 156–160, 2003.

RIBEIRO DA SILVA, Filipa. The slave trade and the development of the Atlantic Africa port system, 1400s–1800s. **International Journal of Maritime History**, [s. l.], v. 29, n. 1, Oxford Studies in African Affairs, p. 138–154, 2017. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=wM5grgEACAAJ>.

RUSANOVA, Iryna *et al.* β -globin gene cluster haplotypes in sickle cell patients from Panamá. **American Journal of Human Biology**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 377–380, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21387457/>. Acesso em: 24 out. 2022.

SCHROEDER, W. A. *et al.* β -Cluster Haplotypes, α -Gene Status, and Hematological Data from SS, SC, and S- β -Thalassemia Patients in Southern California. **Hemoglobin**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 325–353, 1989. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2473969/>. Acesso em: 24 out. 2022.

SERJEANT, Graham R. Phenotypic variation in sickle cell disease: the role of beta globin haplotype, alpha thalassemia, and fetal hemoglobin in HbSS. **Expert Review of Hematology**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 107–116, 2022. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17474086.2022.2040984>. Acesso em: 23 nov. 2022.

SHIMAUTI, Eliana LitsukoTomimatsu *et al.* Prevalence of β S-globin gene haplotypes, α -thalassemia (3.7 kb deletion) and redox status in patients with sickle cell anemia in the state of Paraná, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 316–323, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26500435/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

SICA, Hugo Capel. A criação do Estado do Rio São Francisco como solução geopolítica para o desenvolvimento da região Oeste da Bahia. In: GEOGRAFIA E GEOPOLÍTICA: ALCANCES E LIMITES EM PESQUISA. [S. l.]: Editora Científica Digital, 2019. v. 10, p. 9–22. Disponível em: <http://www.revistageopolitica.com.br/index.php/revistageopolitica/article/view/262>. Acesso em: 2 dez. 2023.

SILVA-PINTO, Ana Cristina *et al.* Economic burden of sickle cell disease in Brazil. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 17, n. 6, p. e0269703, 2022. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0269703>. Acesso em: 27 nov. 2022.

SILVA JR., Carlos da. Ardras, minas e jejes, ou escravos de “primeira reputação”: políticas africanas, tráfico negreiro e identidade étnica na Bahia do século XVIII. **Almanack**, [s. l.], n. 12, p. 6–33, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/alm/a/xHFxCX4Kz3HWqgCDdhPppHz/>. Acesso em: 20 nov. 2023.

SILVA, Wellington dos Santos; KLAUTAU-GUIMARÃES, Maria de Nazaré; GRISOLIA, Cesar Koppe. β -globin haplotypes in normal and hemoglobinopathic individuals from Reconcavo Baiano, State of Bahia, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 411–417, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21637405/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

SINGH, Utkarsha A.; KUMARI, Mukta; IYENGAR, Soumya. Method for improving the quality of genomic DNA obtained from minute quantities of tissue and blood samples using Chelex 100 resin. **Biological Procedures Online**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 12, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29881330/>. Acesso em: 27 nov. 2023.

SOUZA, Amanda Freire de. **Caracterização molecular dos haplótipos ligados ao gene da globina β e investigação da deficiência da enzima G6PD em paciente com doença falciforme no Estado da Paraíba**. 2020. 1–70 f. - Universidade Federal da Paraíba, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/18285>. Acesso em: 17 nov. 2022.

STEINBERG, Martin H. **Fetal hemoglobin in sickle cell anemia**. [s. l.]: Blood, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32808012/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

STEINBERG, Martin H.; SEBASTIANI, Paola. Genetic modifiers of sickle cell disease. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 87, n. 8, p. 795–803, 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajh.23232>.

SUTTON, Millicent; BOUHASSIRA, Eric E.; NAGEL, Ronald L. Polymerase chain reaction amplification applied to the determination of β -like globin gene cluster haplotypes. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 66–69, 1989. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2757004/>. Acesso em: 25 out. 2022.

VETEN, Fatimetou M. *et al.* Hb S [β 6(A3)Glu→Val, G A G>G T G] and β -Globin Gene Cluster Haplotype Distribution in Mauritania. **Hemoglobin**, [s. l.], v. 36, n. 4, p. 311–315, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22625666/>. Acesso em: 26 nov. 2023.

WATANABE, Alexandra M. *et al.* The frequency of β S -globin haplotypes in the state of Paraná, Brazil, and clinical manifestations of sickle cell anemia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 24–30, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/SLMcGqt38pMfmCTNCydMvDF/?lang=en>. Acesso em: 13 nov. 2023.

WILLIAMS, Thomas N.; THEIN, Swee Lay. Sickle Cell Anemia and Its Phenotypes. **Annual review of genomics and human genetics**, [s. l.], v. 19, p. 113–147, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29641911/>. Acesso em: 27 nov. 2022.

ZAGO, M.A. *et al.* Atypical beta(s) haplotypes are generated by diverse genetic mechanisms. **American Journal of Hematology**, [s. l.], v. 63, n. 2, p. 79–84, 2000. Disponível em: [https://sci-hub.se/10.1002/\(sici\)1096-8652\(200002\)63:2%3C79::aid-ajh4%3E3.0.co;2-d](https://sci-hub.se/10.1002/(sici)1096-8652(200002)63:2%3C79::aid-ajh4%3E3.0.co;2-d). Acesso em: 24 out. 2022.

ZAGO, Marco A.; FIGUEIREDO, Mauro S.; OGO, Satie H. Bantu β s cluster haplotype predominates among Brazilian Blacks. **American Journal of Physical Anthropology**, [s. l.], v. 88, n. 3, p. 295–298, 1992.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1642317/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

ZAGO, Marco A.; FIGUEIREDO, Mauro S.; OGO, Satie H. Bantu β s cluster haplotype predominates among Brazilian Blacks. **American Journal of Physical Anthropology**, [s. l.], v. 88, n. 3, p. 295–298, 1992.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1642317/>. Acesso em: 24 out. 2022.