

ARTIGO DE REVISÃO

Terapia gênica em doenças falciformes: Análise dos efeitos curativos nas beta-talassemias e nas anemias falciformes

Gene therapy in sickle cell disease: Analysis of curative effects on beta-thalassemias and sickle cell anemia

Ianaly Raiane Abrantes Sarmiento

Asgard Cursos (AGD), Goiânia - GO, E-mail: ianaly_raiane@hotmail.com

Maria Alciene Saraiva de Souza

Faculdade Santa Maria (FSM), Cajazeiras - PB. E-mail: alciene_ss@yahoo.com.br

Dandara Dias Cavalcante Abreu

Faculdade Santa Maria (FSM), Cajazeiras - PB. E-mail: dandaradias@hotmail.com

Maria Raphaella Ferreira Gomes

Faculdade Santa Maria (FSM), Cajazeiras - PB. E-mail: raphaellafgomes@gmail.com

Resumo: Objetivo: relacionar as Doenças Falciformes com a terapia gênica, tendo em vista a possibilidade da correção genética dessas hemoglobinopatias hereditárias. Métodos: o delineamento consistiu em uma revisão integrativa a partir de artigos publicados nas bases de dados Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da saúde (LILACS), e da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), combinando os seguintes descritores: Genetic therapy AND Anemia, Sickle Cell e Beta-thalassemia AND Anemia, Sickle Cell. Resultados: a maioria dos artigos utilizados faziam uma abordagem geral sobre a terapia genética em pacientes beta-talassêmicos, comparando as características destes com as dos indivíduos falciformes, ressaltando as grandes chances de controle e até mesmo da cura destas através da inserção ou edição de genes como também transplante das células hematopoiéticas. Estudos atuais apostam em avanços científicos no ramo da biologia da manipulação para que haja uma modificação genética com transfusão de células em crianças pré-diagnosticadas com alguma hemoglobinopatia, impedindo assim que ocorram as manifestações clínicas da doença. Considerações Finais: sabendo-se do grande número de nascidos portando algum tipo de Doença Falciforme, a modificação genética do sangue do cordão umbilical e o desenvolvimento de células estaminais hematopoiéticas seria, portanto uma terapia ideal para a diminuição dos casos de recém-nascidos portadores de Anemia Falciforme ou de Beta-talassemia. Já nos casos já existentes, a abordagem terapêutica que mostra maior eficiência e facilidade de acesso seria àquela que combina o aumento do volume celular com a diminuição da hemoglobina intracelular.

Palavras-chave: Doenças falciformes; Terapia genética; Eficácia clínica.

Abstract: Objective: to relate Sickle Diseases to gene therapy, considering the possibility of genetic correction of these hereditary hemoglobinopathies. Methods: the design consisted of an integrative review based on articles published in the Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences (LILACS), and Virtual Health Library (VHL) databases, combining the following descriptors: Genetic therapy AND Anemia, Sickle Cell and Beta-thalassemia AND Anemia, Sickle Cell. After searching and applying the inclusion and exclusion criteria, eight articles remained. Results: most articles used a general approach on gene therapy in beta-thalassemia patients, comparing their characteristics with those of sickle-cell individuals, highlighting the great chances of control and even cure of these by insertion or editing of genes As well as transplantation of hematopoietic cells. Current studies are betting on scientific advances in the biology of manipulation so that there is a genetic modification with transfusion of cells in pre-diagnosed children with some hemoglobinopathy, thus preventing the clinical manifestations of the disease from occurring. Final Considerations: it is known that the large numbers of children with some type of sickle cell disease, the genetic modification of umbilical cord blood and the development of hematopoietic stem cells would therefore be an ideal therapy for the reduction of cases of newborns with Sickle or Beta-thalassemia anemia. In the already existing cases, the therapeutic approach that shows greater efficiency and ease of access would be the one that combines the increase of the cellular volume with the decrease of the intracellular hemoglobin.

Keywords: Sickle cell disease; Gene therapy; Clinical efficacy.

Recebido em: 18/05/2020

Aprovado em: 14/11/2020



INTRODUÇÃO

O termo Doença Falciforme (DF) inclui as doenças hereditárias monogênicas, tendo como principais representantes dessa classe as Anemias Falciformes (AF) e outras condições patológicas em que os genes da hemoglobina fazem associação com algumas hemoglobinopatias hereditárias, como a Beta-talassemia (Bt) (RODRIGUES, 2016).

A Anemia Falciforme representa a hemoglobinopatia hereditária de caráter autossômico recessivo de maior prevalência no mundo, sendo em algumas circunstâncias potencialmente fatal. As alterações na sua morfologia resultam na deficiente distribuição do oxigênio por provocar à polimerização da hemoglobina, dificultando também a correta distribuição do fluxo sanguíneo no organismo humano (NOGUEIRA *et al.*, 2016).

Por outro lado, as Beta-talassemias são as anemias hereditárias ocasionadas por mais de 300 mutações no gene da beta-globina, causando a síntese reduzida da proteína beta, resultando na ausência ou deficiência da cadeia beta da hemoglobina, caracterizando uma anemia hipocrômica (MANSILLA-SOTO *et al.*, 2016; SENOL *et al.*, 2016).

A alteração hematológica da Anemia Falciforme, a principal entre as Doenças Falciformes, ocorre pela substituição do ácido glutâmico pela valina no gene beta (β) da globina. Esta por sua vez, acontece na posição número seis da exterminal N-terminal dessa cadeia, originando assim uma hemoglobina denominada hemoglobina S, a qual sofre alterações morfológicas tendo como resultado a falcização das hemácias (SOUZA *et al.*, 2016).

A mutação supracitada faz com que os eritrócitos percam sua forma discoide e se transformem em células alongadas, em forma de foice ou lua crescente. As hemácias falciformes por sua vez, apresentam mais moléculas de adesão na sua superfície, se comparadas com os eritrócitos normais. Este fato faz com que aumentem as chances de ocorrer vaso-oclusão, pois estas moléculas fazem com que as hemácias apresentem maior chance de adesão com outras células e até mesmo com o próprio endotélio vascular (SOUZA *et al.*, 2016).

Terapia gênica, também denominada de terapia gênica, representa uma excelente opção terapêutica para transtornos monogênicos da hemoglobina, como as doenças falciformes por representar a forma curativa mais segura e eficaz, obtendo assim bons resultados clínicos, tendo por objetivo fazer a expansão de células-troncos hematopoiéticas sem causarem Anomalias Hematopoiéticas. Esta tecnologia por sua vez, baseia-se em técnicas de transferências de genes de células hematopoiéticas com o uso de vetores para que aconteça uma expressão transgênica adequada que se finda na correção dessas doenças (CAVAZZANA *et al.*, 2016; RAI; MALIK, 2016).

Apesar de o Hidroxiureia ser o único fármaco que passou pela aprovação (dos Estados Unidos da América - EUA) no tratamento dessas doenças ainda há contrariedades quanto a sua eficiência, sendo esta apenas parcial por não atuar em todas as células. Pois,

tendo em vista a polimerização de fibras ocorrida nos processos falciformes, uma terapia que combinasse o aumento do volume celular com a redução da hemoglobina, resultaria no atraso da formação dessas fibras, ou seja, na sua polimerização. Com isso, aumentaria assim a afinidade das hemácias com o oxigênio, sendo, portanto, uma abordagem viável à terapia (LI *et al.*, 2017).

No Brasil, a Anemia Falciforme e outras hemoglobinopatias hereditárias relacionadas com a beta-globina, acometem predominantemente os negros, e estudos revelam que nascem de 700 a 1.000 crianças por ano com algum tipo da doença falciforme, representando assim um problema de saúde pública, justificando desta forma a pesquisa (RODRIGUES, 2016). Assim, a finalidade da pesquisa é relacionar as doenças falciformes com a terapia gênica, tendo em vista a possibilidade da correção genética dessas hemoglobinopatias hereditárias.

MÉTODO

O método utilizado foi a revisão integrativa da literatura, a qual tem a finalidade de sistematização de artigos teóricos e/ou empíricos contidos na literatura, com a finalidade de fornecer uma visão ampla e informativa sobre fenômenos específicos. Sendo assim, permitindo o incremento dos assuntos abordados com novos conhecimentos fundamentados em trabalhos anteriormente publicados (LAKATOS; MARCONI, 2003).

Esta integração foi construída seguindo etapas sucessivas: a primeira etapa desenvolvida foi a escolha do a problemática em questão, a segunda foi a escolha das bases de dados as quais iriam ser feitas as buscas na literatura eletrônica, terceiromente foi feita a delimitação dos critérios de inclusão e exclusão da mesma, a quarta etapa foi a análise dos dados seguida da síntese destes para a escrita da revisão, sendo então a quinta etapa (MENDES *et al.*, 2008).

A questão norteadora desse estudo para seu desenvolvimento foi: existem inovações tecnológicas na ciência gênica para controle e/ou cura de doenças hereditárias?

Como base de dados, houve a escolha da Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da saúde (LILACS) e da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS). Desta forma, foram utilizados os descritores e operadores booleanos como se segue: *Genetic therapy AND Anemia, Sickle Cell e Beta-thalassemia AND Anemia, Sickle Cell*, obtendo-se assim, uma totalidade de 33 artigos, e ainda procedendo com a aplicação dos critérios e inclusão e exclusão: textos com acesso gratuito, com publicação nos idiomas português e inglês, artigos publicados entre os anos de 2016 e 2017, e aqueles que correspondiam à questão norteadora, representando, portanto um tema escasso na literatura. Após aplicação desses critérios obteve-se oito artigos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os oito artigos selecionados estão na tabela 1. Estes por sua vez, abordaram a influência do tratamento genético nas doenças falciformes, anemia falciforme e a beta-talassemia. A maior proporção dos estudos foram encontrados nos Estados Unidos (37,5%) e no Brasil (37,5%), tendo os 15% restantes

divididos entre a França e a Turquia, além disso, 87,5% dos artigos são do ano de 2016 e 12,5% de 2017. Quanto aos estudos, prevaleceram os ensaios clínicos com indivíduos falciformes e talassêmicos, devido os resultados serem mais rápidos e com maior chance de precisão.

Tabela 1 - Descrição dos artigos selecionados conforme autor/ano, país, projeto e amostra.

Autor e ano	País	Metodologia	Amostra
MANSILLA-SOTO, J. <i>et al.</i> , 2016	Estados Unidos da América	Ensaio clínico terapêutico	Camundongos talassêmicos
RAI, P.; MALIK, P., 2016	Estados Unidos da América	Revisão sistemática	*
CAVAZZANA, M. <i>et al.</i> , 2016	França	Estudo de caso	Paciente em tratamento de terapia gênica e macacos de Nemestrina
LI, Q. <i>et al.</i> , 2017	Estados Unidos da América	Ensaio clínico	Amostras de doadores traços falciformes
SOUZA, J.M. <i>et al.</i> , 2016	Brasil	Revisão sistemática	*
SENOL, S.P. <i>et al.</i> , 2016	Turquia	Estudo observacional	Crianças e adultos com Bt e AF em terapia
RODRIGUES, D.O.W. <i>et al.</i> , 2016	Brasil	Coorte prospectiva	Crianças com DF
NOGUEIRA, F.G.S.B. <i>et al.</i> , 2016	Brasil	Estudo descritivo	Adolescentes com AF e sem histórico de doença respiratória

A maioria dos artigos utilizados faziam uma abordagem geral sobre a terapia genética em pacientes beta-talassêmicos, comparando as características destes com as dos indivíduos falciformes, ressaltando as grandes chances de controle e até mesmo da cura destas através da inserção ou edição de genes como também transplante das células hematopoiéticas.

Alguns artigos também levaram em consideração o uso do Hidroxiureia (HU) como um agente modificador das doenças falciformes por agirem diretamente na hemoglobina, porém não se aprofundando no seu mecanismo de ação, conforme exposto na tabela 2.

Tabela 2 – Descrição dos artigos selecionados conforme objetivos, resultados e observações.

Objetivos	Resultados	Observações
1 Transferir genes da globina e a capacidade do próprio sujeito talassêmico em formar células-tronco para gerar glóbulos vermelhos com conteúdo de hemoglobina, usando vários outros sistemas vetoriais (vetor lentiviral de globina de maior desempenho denominado TNS9).	Camundongos enxertados com células TNM corrigiram sua anemia, hematopoiese e acúmulo de ferro na região periférica, tecidos e órgãos. Em um modelo letal de b-talassemia maior, em que os camundongos sucumbiram menos de 60 dias após o nascimento até anemia grave, esplenomegalia, hematopoiese extramedular e sobrecarga hepática de ferro, mostrou resgate a longo prazo após a transferência de TNS9 no fígado fetal.	Em grandes grupos de ratos, não observou-se evidência de silenciamento vetorial ao longo do tempo em primário, secundárias ou mesmo quimeras terciárias (inéditas observações), indicando que o vetor TNS9 funciona continuamente durante os 26 meses de duração. Este estudo abriu o campo, que para mais de uma década já não tinha conseguido alcançar usando vários outros sistemas vetoriais.
2 Discutir estratégias de terapia genética específicas para as hemoglobinopatias, o sucesso do modelos e o estado atual dos ensaios clínicos de terapia gênica.	O tratamento curativo pela capacidade de tecnologias de transferência de genes é limitada pela gravidade da doença subjacente. O aumento da hemoglobina para 8-9 gm / dl observado na β-talassemia ainda não é suficiente para impedir a eritopoiese ineficaz e, portanto, estes sujeitos ainda são transfundidos intermitentemente. Contudo, a carga de transfusão global nesta população de doentes diminuiu dramaticamente.	A melhoria da potência do vetor aumentará a expressão do gene. Esforços para promover a diferenciação da tecnologia iPSC para produzir HSC pode expandir a fonte HSC, e a edição de genes pode contornar a necessidade de transgene expressando-LV e potencial, embora baixo, genotoxicities inserção de LV.

3	Discutir estratégias de terapia genética específicas para as hemoglobinopatias, o sucesso dos modelos atuais e dos ensaios clínicos de terapia gênica	Os desafios para a tradução clínica eficaz nas hemoglobinopatias incluem a dose de HSCs transdutíveis graváveis, a intensidade do regime de transplante de pré-condicionamento e expressão do transgene; tecnologias que podem remodelar o futuro da terapia genética são a edição de genes usando CRISPR / Cas9 e desenvolvimento de células estaminais hematopoiéticas de iPSCs com repovoamento a longo prazo potencial.	Com avanços científicos na biologia de células estaminais e manipulação genética, imaginamos um futuro onde uma criança pré-natal diagnosticado com hemoglobinopatia pode ter o seu sangue do cordão umbilical geneticamente modificado com células transfundidas mesmo antes do comutador de hemoglobina fetal para adulto, impedindo ocorrência de quaisquer manifestações da doença.
4	Descrever uma abordagem sensível e que está diretamente ligado à patogênese e podem ser utilizados para pesquisar a inibição da formação de fibras dentro das células.	Descobriram potentes inibidores de polimerização que atuam produzindo aumento do volume celular para diminuir a concentração da hemoglobina intracelular, indicando que o aumento do volume celular é uma abordagem terapêutica.	Mesmo que haja menos formação de fibras no traço falciforme células, os tempos de atraso mais longos produzem distorções servido para células desoxigenadas SS, tornando mais fácil para a imagem para determinar com precisão os tempos de falção. Distorções maiores ocorrem porque há menos fibras homoganeamente nucleadas e portanto menos domínios de fibras.
5	Descrever a fisiopatologia, manifestações clínicas e tratamento da Anemia Falciforme	O diagnóstico precoce possibilita uma melhor qualidade de vida maior perspectiva também, pois o paciente deve contar com os cuidados e tratamentos logo no início.	Cada manifestação clínica tem uma forma de tratamento específica, cabendo na maioria das vezes ao profissional da saúde selecionar a mais adequada para cada caso e para cada momento suprindo assim como necessidades do paciente.
6	Avaliar a qualidade de vida, eficácia clínica e satisfação de pacientes pediátricos e adultos com BTM e SCA recebendo DFX para contribuir para o seu tratamento e processo de suporte.	Os resultados indicam que o DFX-tratados pacientes pediátricos e adultos com BTM ou SCA não estão conseguindo que seu marcador hematológico seja alvo limiar (principalmente os níveis de ferritina no soro), apesar de longo prazo de tratamento para a sobrecarga de ferro. Além disso, a terapia de quelação DFX parece impactar negativamente a sua QVRS para que o satisfação do paciente com as TIC é geralmente pobre.	Foram fornecidas algumas evidências de diferenças nas limitações da qualidade de vida e satisfação entre os pacientes com BTM ou SCA dependendo da terapia de quelação DFX. Destacou-se a importância de proporcionar aos pacientes pediátricos e adultos com BTM ou com SCA o tratamento de quelação ideal, a fim de aumentar a QVRS e diminuir a presença metabólica, endócrina, hepática, renal e cardíaca co-morbidades, além de efeitos colaterais, que levam ao aumento conformidade, e resultando, assim, em benefício clínico ótimo.
7	Verificar determinantes genéticos associados com acidente vascular cerebral em crianças com anemia falciforme (SCD).	Entre as crianças com anemia falciforme, 60% tinham SCA. A prevalência de coexistência com α -thal foi de 30,3% e o haplotipo Bantu (CAR) foi identificado em 89,2%. A incidência de AVC foi significativamente mais elevada em pacientes com SCA (27,3% versus 2,3%; P = 0,001) e machos (24,1% versus 9,6%; p = 0,044). A presença de α -Thal (p = 0,196), o haplotipo CARRO (p = 0,543), e sócio-econômico. Fatores não foram estatisticamente significativos em associação com a ocorrência de AVC.	Existe uma alta incidência de acidente vascular cerebral em crianças do sexo masculino e em crianças com SCA. Coexistência com α -thal e haplótipos do conjunto de cadeias de globina beta não apresentou associação com AVC. A heterogeneidade entre populações previamente avaliadas, -reduzibilidade entre os estudos e a necessidade de identificar fatores associados aos pacientes com SCA indicam a necessidade de realizar pesquisas adicionais para demonstrar relevância de fatores genéticos em AVC relacionados à DCS.
8	Descrever a capacidade cardiorrespiratória e a tolerância ao exercício físico de pacientes com Anemia Falciforme.	Foram constatadas alterações obtidas no desempenho das atividades físicas através do IPAQ. A capacidade funcional repercutiu com redução na distância percorrida no teste de caminhada de seis minutos, nos valores da capacidade vital forçada, no volume expiratório forçado no primeiro segundo e redução do pico de fluxo expiratório.	A presença da AF, polimorfismo HbSS, mostrou ser um fator que provoca alterações sobre a função pulmonar e na aptidão cardiorrespiratória.

O diagnóstico precoce da Anemia Falciforme possibilita uma melhoria na qualidade de vida dos pacientes como também uma maior perspectiva nos tratamentos, visto que esses são realizados desde o início e de forma específica e adequada para cada caso, dependendo de cada manifestação clínica e cada momento de progressão da doença (SOUZA *et al.*, 2016).

De acordo com os estudos de Rai e Malik (2016), as estratégias de terapias gênicas para hemoglobinopatias representam tratamentos curativos, porém com limitações em casos como aqueles que apresentam doenças subjacentes e de maior gravidade, onde as transfusões representam, portanto, a forma de controle destes. Levou-se também em consideração a potencialização dos sistemas vetoriais, para que consequentemente aumente a expressão dos genes, fazendo com que as transfusões diminuam na população doente.

A efetividade na utilização de novos sistemas vetoriais para transferência de genes que estimulassem os indivíduos talassêmicos a formarem células-tronco foi por décadas obscura. Com a transferência e implantação do sistema lentiviral TNS9 em uma população de ratos que foram enxertados com células TNM, observou-se o controle da hematopoiese e cura da anemia. Diante disso, confirmou-se as evidências do funcionamento do sistema vetorial TNS9 por 26 meses contínuos, sem silenciamento, abrindo novos campos de pesquisa para a implantação de novos sistemas de transferência de genes (MANSILLA-SOTO *et al.*, 2016).

O aumento do volume celular com consequente diminuição da concentração da hemoglobina intracelular representa uma abordagem terapêutica de grande valia, visto que Li *et al.* (2017) descobriu em seus estudos a existência de inibidores potentes da polimerização que se utilizam desse aumento para formação de um atraso longo na produção de fibras que falcizam as células, existindo assim menor domínio dessas fibras e maior captação de oxigênio pelas hemácias. Em contrariedade com este, Rai e Malik (2016) ressaltam que, apesar de existirem tecnologias capazes de aumentar a hemoglobina, ainda assim não é um caminho curativo tão eficiente, tendo em vista a análise da gravidade da doença subjacente.

Alguns estudos anteriores revelaram que existe entre as crianças do sexo masculino com Anemia Falciforme uma alta incidência de acidente vascular cerebral. Esses dados levaram Rodrigues *et al.* (2016) a estudarem mais profundamente os casos, baseando-se em comparações de fatores sócio-econômicos, sexo e a coexistência de α -thal e haplótipos no conjunto de cadeias de globina beta. Por haver heterogeneidade entre os avaliados, os fatores sócio-econômicos não foram estatisticamente significativos, e com isso ressalta-se a necessidade de realização de pesquisas adicionais com crianças com AF para demonstrar a real relevância dos fatores genéticos envolvidos na Anemia Falciforme com os riscos de AVC entre eles. Quanto a qualidade de vida nos casos de AF, existe também, além dos riscos de AVCs, algumas alterações na função pulmonar e na aptidão cardiorrespiratória

causadas pelo polimorfismo HbSS (NOGUEIRA *et al.* 2016).

Apesar dos diversos meios para proporcionar satisfação, qualidade de vida e eficácia clínica aos pacientes com Bt ou AF, Senol *et al.* (2016) forneceram algumas evidências de que ainda assim existem limitações quanto à qualidade de vida destes. Esta porém depende muito do tipo de tratamento que cada portador é submetido, e uma opção que embarcasse esses efeitos positivos, afim de que diminuíssem os efeitos colaterais e aumentasse a conformidade seria ideal, resultando portanto em um ótimo benefício clínico.

Cavazzana *et al.* (2016) apostam em avanços científicos no ramo da biologia da manipulação para que haja uma modificação genética com transfusão de células em crianças pré-diagnosticadas com alguma hemoglobinopatia, impedindo assim que ocorram as manifestações clínicas da doença. Relatam ainda a utilização dessas tecnologias para a remodelagem na edição dos genes com a utilização de CRISPR / CaS9 e o desenvolvimento de células estaminais hematopoiéticas de iPSCs, sendo, portanto, um sucesso dos modelos atuais com alterações e implementações utilizando tecnologias futuras.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As novas tecnologias em terapias genéticas para as Doenças Falciformes ainda não são tão exploradas, apesar de hoje em dia não serem tão “obscuras” como décadas atrás, essa falta de estudos relacionados ainda dificulta a inserção comprovada de novas remodelações genéticas para o desenvolvimento de sistemas vetoriais, fármacos ou até mesmo constância de transfusões que levam uma melhor qualidade de vida e como principal objetivo, à cura.

Sabendo-se do grande número de nascidos portando algum tipo de Doença Falciforme, a modificação genética do sangue do cordão umbilical e o desenvolvimento de células estaminais hematopoiéticas seria, portanto uma terapia ideal para a diminuição dos casos de recém-nascidos portadores de Anemia Falciforme ou de Beta-talassemia. Quanto aos casos já existentes, a abordagem terapêutica que mostra maior eficiência e facilidade de acesso seria àquela que combina o aumento do volume celular com a diminuição da hemoglobina intracelular, pois dessa forma aumentaria a captação do oxigênio e assim os pacientes iriam ter uma melhor qualidade de vida além de eficácia clínica no tratamento.

A viabilidade dessas terapias ainda precisa ser mais avaliada, já que os meios para estes processos ainda não passaram por testes (terapia das células estaminais hematopoiéticas) ou por avaliação para que haja a implantação destas como sendo abordagens viáveis aos tratamentos das Doenças Falciformes. Diante disso, necessita-se do aprimoramento de intervenções biomédicas sob abordagens terapêuticas com finalidade de acurácia das hemoglobinopatias hereditárias.

REFERÊNCIAS

- CAVAZZANA, M. *et al.* Clinical Outcomes of Gene Therapy with BB305 Lentiviral Vector for Sickle Cell Disease and β -Thalassemia. **Molecular Therapy**, Paris, França, v. 24, n. 1, p. 111-112, 2016.
- MANSILLA-SOTO, J. *et al.* Cell and Gene Therapy for the Beta-Thalassemias: Advances and Prospects. **Human Gene Therapy**, v. 27, n. 4, p.295-304, abr. 2016.
- MENDES, K.D.S.; SILVEIRA, R.C.C.P.; GALVÃO, C.M. Revisão integrativa: método de pesquisa para incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. **Texto Contexto Enferm.** 2008 out-dez; 17 (4): 758-64.
- NOGUEIRA, F.G.S.B. *et al.* Estudo da capacidade cardiorrespiratória de pacientes jovens com anemia falciforme: descrição de caso. **Cadernos de Educação, Saúde e Fisioterapia**, São Paulo, v. 3, n. 6, p.1-6, fev. 2016.
- RAI, P.; MALIK, P. Gene Therapy for Hemoglobin Disorders - a mini-review. **J Rare Dis Res Treat**, Oh, USA, v. 2, n. 1, p.25-31, nov. 2016.
- RODRIGUES, D.O.W. *et al.* Genetic determinants and stroke in children with sickle cell disease. **Jornal de Pediatria (Rio J.)**, v. 92, p. 602-8, 2016.
- SENOL, S.P. *et al.* Quality of life, clinical effectiveness, and satisfaction in patients with beta thalassemia major and sickle cell anemia receiving deferasirox chelation therap. **Journal Of Basic And Clinical Pharmacy**, Mersin, Turquia, v. 7, n. 2, p.49-59, Mar. 2016.
- SOUZA, J.M. *et al.* Fisiologia da Anemia Falciforme. **Revista Transformar**, Rio de Janeiro, v. 8, 2016.
- LAKATOS, E.M.; MARCONI, M.A. **Fundamentos de metodologia científica**. 5. ed. São Paulo: Atlas, 2003.
- LI, Q. *et al.* Kinetic assay shows that increasing red cell volume could be a treatment for sickle cell disease. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, v. 114, n. 5, p.689-696, 17 jan. 2017.