

Polimorfismos e necrose avascular em pacientes com doença falciforme – Uma revisão sistemática

Polymorphisms and avascular necrosis in patients with sickle cell disease – A systematic review

Márcio Passos Leandro^{a*} , Natália Damasceno Almeida^b , Lara Santana Hocevar^b , Cloud Kennedy Couto de Sá^a , Amâncio José de Souza^b , Marcos Almeida Matos^b 

RESUMO

Objetivo: Estabelecer, de modo sistemático, se existe associação entre polimorfismos e a necrose avascular em pacientes com doença falciforme.

Fontes de dados: A revisão, conduzida segundo as diretrizes *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) e registrada no *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO), foi baseada na busca de estudos nas bases de dados PubMed, *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e na literatura cinza (Google Scholar e Open Gray) até junho de 2020. A análise da qualidade dos artigos foi baseada nos critérios do Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE).

Síntese dos dados: Dez artigos foram selecionados nas bases de dados e dois incluídos por meio da busca manual, totalizando 12 estudos elencados. As amostras resultaram em 2.362 pacientes incluídos. Com base na iniciativa STROBE, sete estudos atenderam total e/ou parcialmente mais de 70% dos itens essenciais e dois atingiram menos que 60% deles, com variação geral de 86,4–54,5%. Os resultados mostram que os polimorfismos nos genes da proteína morfogenética óssea 6 (BMP6), da Klotho (KL) e da Anexina A2 (ANXA2) podem ter associação com osteonecrose no contexto da doença falciforme. Seis artigos estudaram o polimorfismo no gene da enzima MTHFR, mas apenas um obteve associação positiva. Os polimorfismos associados ao receptor DARC, ao gene ITGA4, ao CD36 e aos genes de proteínas trombofílicas não demonstraram associação em nenhum dos estudos.

Conclusões: Os polimorfismos nos genes BMP6, KL e ANXA2 estão possivelmente associados com a necrose avascular em indivíduos com doença falciforme. Entretanto, para a confirmação dessas alterações genéticas como fatores de risco, é necessário que mais estudos com maior poder estatístico e com maior rigor metodológico sejam realizados.

Palavras-chave: Doença falciforme; Necrose avascular; Osteonecrose; Polimorfismos.

ABSTRACT

Objective: To systematically establish whether there is an association between polymorphisms and avascular necrosis in patients with sickle cell disease.

Data source: The review, conducted according to PRISMA guidelines and registered with PROSPERO, was based on research of studies in PubMed, SciELO, LILACS, BVS databases and in the gray literature (Google Scholar and Open Gray) published until June 2020. The STROBE initiative was used to analyze the articles' quality.

Data synthesis: Ten articles were selected from the databases and two were included through manual search, totaling 12 studies. All samples gathered 2,362 patients. According to STROBE, seven studies fully and/or partially covered more than 70% of the essential items and two studies reached less than 60%, with an overall variation of 86.4–54.5%. The results indicate that polymorphisms in the genes of the bone morphogenetic protein 6 (BMP6), Klotho (KL) and Annexin A2 (ANXA2) may be associated with osteonecrosis in the context of sickle cell disease. Six articles addressed the polymorphism in the MTHFR enzyme gene, but only one found a positive association. Polymorphisms associated with the DARC receptor, the ITGA4 gene, CD36 and thrombophilia protein genes were not associated in any of the studies.

Conclusions: The results indicate that the polymorphisms in BMP6, Klotho and ANXA2 genes may be associated with avascular necrosis in patients with sickle cell disease. However, in order to confirm these genetic changes as risk factors, further studies with greater statistical power and methodological rigor are needed.

Keywords: Anemia, sickle cell; Avascular necrosis; Osteonecrosis; Polymorphisms.

*Autor correspondente. E-mail: marciopleandro@gmail.com (M. P. Leandro).

^aHospital Geral Ernesto Simões Filho, Salvador, BA, Brasil.

^bEscola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Unidade Acadêmica Brotas, Salvador, BA, Brasil.

Recebido em 17 de janeiro de 2021; aprovado em 06 de junho de 2021.

INTRODUÇÃO

A doença falciforme (DF) é a doença hematológica hereditária mais comum em humanos, marcada por cerca de 300 mil novos casos por ano no mundo, sendo de grande relevância para o cenário da saúde pública global.^{1,2} Trata-se de uma hemoglobinopatia autossômica recessiva causada por mutação que substitui o ácido glutâmico pela valina, produzindo uma proteína anormal, a hemoglobina S (HbS).³ A doença caracteriza-se por deformação da estrutura da hemácia, que adquire formato semelhante ao de uma foice sob baixas tensões de oxigênio.¹ A estrutura falcizada proporciona maior capacidade de adesão, facilitando o agrupamento das hemácias, comprometendo o fluxo sanguíneo e, consequentemente, levando a fenômenos vaso-oclusivos com graves repercussões clínicas.^{1,3,4}

A necrose avascular (NAV) é uma dessas consequências. É produzida por redução do fluxo sanguíneo para os ossos⁵, acometendo principalmente a cabeça femoral e as articulações de ombros, joelhos e tornozelos. As alterações patológicas dessa osteonecrose são responsáveis por dor, limitação funcional do membro afetado, redução do desempenho escolar e piora da qualidade de vida dos pacientes.⁴⁻⁸ Atualmente existem estudos que buscam entender o papel de polimorfismos genéticos no desenvolvimento da NAV em pacientes com DF.^{3,9}

Os polimorfismos genéticos, naturalmente presentes na população, são alterações na sequência do DNA produzidas por meio da substituição, deleção ou inserção de bases nitrogenadas ou sequências de bases. Essas alterações podem culminar em modificações diretas no funcionamento e na expressão de proteínas ou podem constituir marcadores associados indiretamente a processos patológicos com origem genética.^{10,11} O risco potencial aumentado de NAV tem sido notado em diversos polimorfismos descritos na literatura, que envolvem genes associados ao crescimento celular, ao metabolismo do óxido nítrico e à coagulação, por meio de mecanismos que favorecem a adesão de plaquetas e agravam a doença arterial oclusiva.⁹ Dessa forma, no contexto da DF, esses polimorfismos podem funcionar como potencializadores da disfunção endotelial, produzindo perda do efeito protetor contra o estresse oxidativo e redução na produção de óxido nítrico, além de alterações vaso-oclusivas e endoteliais.³

Nesse contexto se faz necessário entender se os estudos disponíveis na literatura são capazes de relacionar a presença desses polimorfismos em associação com a NAV no contexto da DF. Compreendendo que o acometimento ósseo é um fator importante de piora do quadro do indivíduo com DF, a identificação de potenciais biomarcadores específicos pode ampliar os mecanismos prognósticos no curso do tratamento desses

pacientes. O objetivo desta revisão sistemática é avaliar se existe associação relevante entre polimorfismos encontrados na DF e na necrose óssea avascular.

MÉTODO

Foi realizada revisão sistemática de literatura segundo as diretrizes *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA),¹² registrada no banco de dados *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) sob o número CRD42020192074.

Os estudos que abordaram polimorfismos e NAV (ou osteonecrose) na DF foram extraídos das bases de dados até junho de 2020, sem restrição de idioma e ano da publicação, sexo ou idade dos participantes. Os artigos de revisão, relatos de caso e outros artigos em que não foi possível separar nos resultados a osteonecrose e outras complicações vasculares na DF foram excluídos.

Uma pesquisa bibliográfica computadorizada foi realizada nas bases de dados eletrônicas PubMed, Scientific Electronic Library Online (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS); e nas bases de dados da literatura cinza: Google Scholar, Open Gray. Como descritores, foram utilizados os termos *Medical Subject Headings* (MeSH) e Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) correspondentes a “*polymorphism, genetic*”, “*osteonecrosis*”, “*avascular necrosis*” e “*sickle cell disease*”. Os termos foram combinados com os operadores booleanos “AND” e “OR” (Quadro 1). Também foi realizada uma pesquisa manual na lista de referências dos artigos selecionados. Todas as buscas foram realizadas até junho de 2020. As referências foram gerenciadas e os artigos duplicados foram removidos.

Os trabalhos foram identificados pelo título e pelo resumo por dois revisores independentes (L.S.H e N.D.A.), que seguiram os critérios de inclusão e exclusão. Estudos sem resumo cujo título, no entanto, sugerisse atender aos critérios de seleção também foram selecionados para análise. Todas as divergências foram resolvidas com a consulta a um terceiro revisor (M.P.L.), que, finalmente, definiu quais artigos teriam a leitura completa. Os trabalhos selecionados foram lidos na íntegra por três autores. Após a leitura, os estudos foram incluídos na revisão sistemática mediante acordo dos três avaliadores.

A extração dos dados foi realizada por um autor (N.D.A.) e verificada por um segundo (L.S.H.). Os desacordos foram resolvidos por meio de discussão. Um terceiro autor (M.P.L.) envolveu-se para tomar a decisão final.

Quadro 1 Estratégias de busca em bases de dados.

Base de dados	Busca
PUBMED	<p>(“polymorphic”[All Fields] OR “polymorphics”[All Fields] OR “polymorphisms”[All Fields] OR “polymorphism, genetic”[MeSH Terms] OR (“polymorphism”[All Fields] AND “genetic”[All Fields]) OR “genetic polymorphism”[All Fields] OR “polymorphism”[All Fields] OR “polymorphisms”[All Fields]) AND (“osteonecrosis”[MeSH Terms] OR “osteonecrosis”[All Fields] OR (“avascular”[All Fields] AND “necrosis”[All Fields]) OR “avascular necrosis”[All Fields]) AND (“anemia, sickle cell”[MeSH Terms] OR (“anemia”[All Fields] AND “sickle”[All Fields] AND “cell”[All Fields]) OR “sickle cell anemia”[All Fields] OR (“sickle”[All Fields] AND “cell”[All Fields] AND “disease”[All Fields]) OR “sickle cell disease”[All Fields])</p>
SCIELO, LILACS e BVS	<p>COMBINAÇÃO 1 Polymorphism AND avascular necrosis AND sickle cell disease Polymorphism AND osteonecrosis AND sickle cell disease COMBINAÇÃO 2 Genetic polymorphism AND avascular necrosis AND sickle cell disease Genetic polymorphism AND osteonecrosis AND sickle cell disease</p>

Os dados coletados foram constituídos pelos autores do estudo: ano de publicação, país, desenho do estudo, idade média, tamanho da amostra, número de pacientes, polimorfismos estudados, características das avaliações e classificações e, por fim, conclusões.

Dois revisores independentes (L.S.H. e N.D.A.) usaram seus critérios de avaliação crítica para analisar todos os artigos incluídos. A lista de verificação proposta pelo *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE)¹³ foi aplicada. Os itens da lista foram classificados como: totalmente atendidos, parcialmente atendidos ou não atendidos. O percentual de satisfação utilizado foi a soma dos itens total e parcialmente atendidos. *Odds Ratio* (OR), risco relativo (RR), teste do qui-quadrado, teste de Fisher, teste *t* de Student, teste de Mann-Whitney, Kruskal-Wallis e regressão logística foram utilizados para interpretar os resultados. Heterogeneidade clínica, metodológica e estatística foram exploradas entre os estudos.

RESULTADOS

Mediante seleção nas plataformas de busca e eliminação dos artigos duplicados, 28 artigos foram identificados (Figura 1). Após a análise de título e resumo, 17 estudos foram excluídos, totalizando 11 selecionados para a leitura. Desses 11, um foi excluído por não diferenciar na análise dos dados a NAV de outras complicações vasculares. Pela busca manual foram incluídos mais dois artigos. Ao fim, 12 trabalhos permaneceram para a análise completa.

Os estudos analisados foram publicados entre 1998 e 2016, todos na língua inglesa. Os 12 artigos foram classificados como transversais. As NAV identificadas em pessoas com DF são na maioria classificadas por meio de estudo radiológico, e foram estudados os polimorfismos e suas incidências e associações com a NAV nesses pacientes.

Todos os artigos apresentaram justificativa racional para sua realização, informando as formas de obtenção dos dados, os métodos de análise de dados, das avaliações dos sujeitos, a descrição dos sujeitos, os desfechos e preditores e a discussão de suas limitações. Quatro trabalhos declararam ter recebido apoio de intuições de pesquisa, e os demais não declararam fontes de financiamento ou relataram que os próprios autores financiaram a pesquisa.

Quatro estudos foram realizados com a população norte-americana, dois com brasileiros, um com kuwaitianos, um com indianos, um com egípcios, um com tunisianos e um em Guadalupe (Antilhas Francesas) (Tabela 1). As amostras dos pacientes com DF nos quais foi avaliada a osteonecrose totalizaram 2.362 componentes, incluindo pacientes pediátricos, adultos e idosos, variando de 21 a 897 indivíduos analisados por artigo. Desse total, 822 tiveram diagnóstico de NAV (principalmente da cabeça do fêmur e/ou da cabeça do úmero).

Oito estudos associaram os resultados a preditores utilizando o teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher, quatro realizaram testes não paramétricos (Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis), quatro empregaram o teste *t* de Student, um fez uso de regressão logística e quatro apresentaram algum indicador de risco (OD ou RR). Um trabalho não realizou associação ou análise de risco e tirou conclusões com base na porcentagem dos resultados encontrados.

Sete artigos atenderam total ou parcialmente mais de 70% dos itens essenciais, de acordo com o STROBE, com variação de 72 a 86%. Desses, Hatzlhofer et al.,¹⁴ Baldwin et al.,¹⁵ Farawela et al.¹⁶ e Nebor et al.¹⁷ destacam-se por suas altas porcentagens alcançadas no STROBE, associadas à metodologia consistente. As demais pesquisas obtiveram variação entre 54,1 e 68,2% em sua avaliação (Tabela 1).

Polimorfismos foram identificados com associações à NAV em pacientes com DF (Tabela 2). Esses polimorfismos foram

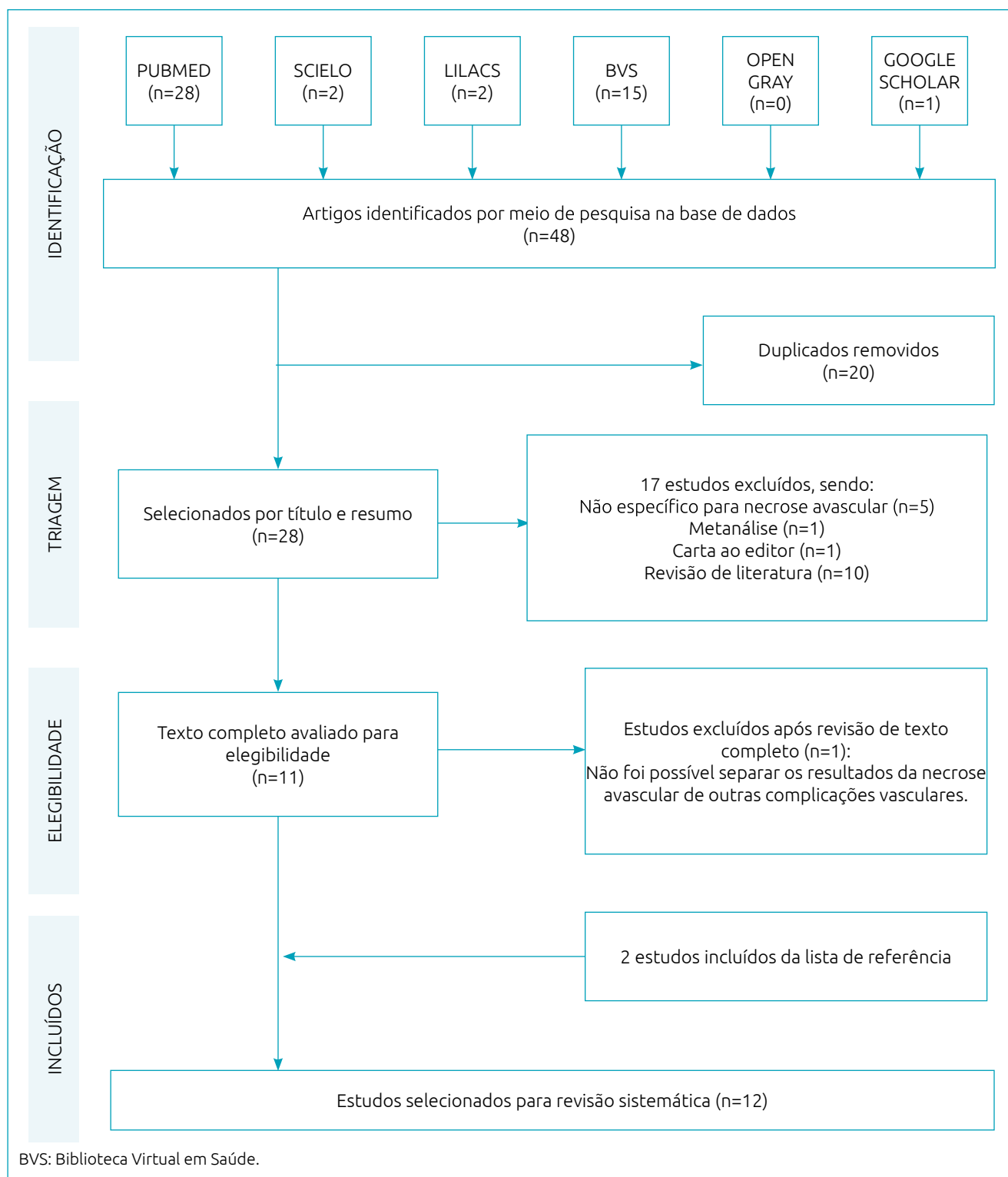


Figura 1 Fluxograma dos critérios de busca na literatura e seleção de estudos sobre a associação de polimorfismos com osteonecrose na doença falciforme.

encontrados nos genes da proteína morfogenética óssea 6 (*BMP6*) — rs26719, rs267201, rs270393, rs449853 e rs1225934; Klotho (*KL*) — rs480780, rs211235, rs2149860, rs685417,

rs516306, rs565587, rs211239, rs211234, rs499091 e rs576404; e da Anexina A2 (*ANXA2*) — rs7163836, hCV11770326, rs7170178, rs1033028, hCV26910500 e hCV1571628.

Tabela 1 Principais características dos artigos selecionados.

Estudo	Origem	Desenho do estudo	Amostra	Idade	Ossos envolvidos	STROBE
Baldwin et al. ¹⁵	EUA	Transversal	897 HbSS/442 com NAV/455 sem NAV	NR	Quadril e/ou ombro	81,8%
Chaouch et al. ¹⁸	Tunísia	Transversal	100 HbSS/81 com NAV/19 sem NAV	5–30	Cabeça do fêmur	72,7%
Kutlar et al. ²³	EUA	Transversal	107 HbSS/45 com NAV/62 sem NAV	15–54	Cabeça do fêmur e do úmero	54,5%
Pandey et al. ²⁷	Índia	Transversal	60 SS /45 Sβ ⁰ /15 SD/154 controle/14 NAV	4–12	NR	68,2%
Hatzlhofer et al. ¹⁴	Brasil	Transversal	277 SS e Sβ ⁰ /177 com CV/100 sem CV/ 43 NAV	5–72	Cabeça do fêmur	86,4%
Nebor et al. ¹⁷	Antilhas Francesas	Transversal	212 HbSS/201 com NAV	11–35	Quadril ou ombro	81,8%
Moreira Neto et al. ²⁵	Brasil	Transversal	29 HbSS/24 HbSC/2 com NAV	13–72	Cabeça do fêmur e do úmero	77,3%
Farawela et al. ¹⁶	Egito	Transversal	59 HbSS /40 HbSβ/8 NAV	2–29	Quadril e/ou ombros	81,8%
Kalai et al. ²⁸	Tunísia	Transversal	66 HbSS/36 HbSβ/11 com NAV	5–12	NR	72,7%
Zimmerman et al. ²⁹	EUA	Transversal	101 HbSS/16 com NAV/85 sem NAV	4–62	Cabeça do fêmur e úmero	68,2%
Zimmerman et al. ³⁰	EUA	Transversal	89 SCD/14 com NAV	5–60	Cabeça do fêmur e úmero	59,1%
Adekile et al. ³¹	Kuwait	Transversal	33HbSS/8 Hbβ ⁰ -thal	2–41	Quadril	63,3%

EUA: Estados Unidos da América; NAV: necrose avascular óssea; CV: complicações vasculares; NR: não relatado.

Seis artigos estudaram o polimorfismo no gene da enzima Metilenotetrahidrofolato redutase (*MTHFR*), mas apenas um obteve associação positiva. Os polimorfismos associados ao receptor DARC (antígeno Duffy/receptor para quimiocinas), ao gene *ITGA4* (nos éxons 4, 5 e 6), ao gene da molécula de adesão CD36 (rs198412) e nos genes de proteínas trombofílicas (a-fibrinogênio, b-fibrinogênio, glicoproteína plaquetária, fator VII, inibidor-1 do ativador do plasminogênio, protrombina e genes do fator V) não demonstraram associação com NAV na DF em nenhum dos estudos.

DISCUSSÃO

Com base nos artigos incluídos nesta revisão, os dados pesquisados associaram a NAV na DF com os polimorfismos nos genes *BMP6*, *KL* e *ANXA2*, envolvidos no metabolismo ósseo.¹⁴ No estudo de Chaouch et al.¹⁸ foi constatado que os polimorfismos rs267196 e rs267201 do *BMP6* são biomarcadores confiáveis para prever pacientes com alto risco de osteonecrose.

No que tange à relação desses genes com a função óssea, a *BMP6*, que faz parte da superfamília TGF-β (fator de

transformação do crescimento beta), tem envolvimento nas vias de sinalização celular associadas com o crescimento e a diferenciação de condrócitos e osteoblastos, tendo importância na formação óssea.^{16,19} O gene *KL* é responsável por várias funções, como controle de canais iônicos e das vias endócrinas que regulam os níveis de vitamina D, possuindo efeitos antiapoptóticos e redutores de estresse oxidativo que protegem o endotélio vascular e induzem a produção de óxido nítrico (NO).^{16,20} Acredita-se que a perda dessa proteção, por meio de alterações no gene *KL*, assim como a redução de NO, esteja relacionada com os eventos que acarretam a NAV.²⁰ A *ANXA2*, que faz parte da família de proteínas de ligação a fosfolipídios reguladas por cálcio, é responsável por regular processos envolvidos com a homeostase, além de ter um papel importante na mineralização óssea.^{21,22}

Entre os 12 estudos avaliados, seis analisaram a enzima *MTHFR*. Em apenas um, realizado por Kutlar et al.²³, foi encontrada uma possível associação específica do polimorfismo do gene com a osteonecrose em pacientes com DF. Os achados negativos assemelham-se ao que foi relatado na metanálise conduzida por Chai et al.²⁴, em que o polimorfismo de nucleotídeo único no gene *MTHFR*, que promove a troca da citosina pela timina (677C>T),

Tabela 2 Principais resultados dos artigos selecionados.

Estudo	Polimorfismos estudados	Medidas de análise	Resultados
Baldwin et al. ¹⁵	BMP6, KL e ANXA2	Regressão logística múltipla; OR	Para KL, dez polimorfismos foram associados à osteonecrose, para BMP6 cinco e, para ANXA2, 6 tiveram essa mesma associação (p<0,050)
Chaouch et al. ¹⁸	BMP6	Teste exato de Fisher, teste do qui-quadrado, regressão logística, RR	rs267196 e rs267201 (RR de 1,31) do BMP6 podem ser considerados biomarcadores para NAVCF
Kutlar et al. ²³	MTHFR	Teste do qui-quadrado	MTHFR pode estar associado a NAV na DF (p=0,006)
Pandey et al. ²⁷	ANXA2	Teste do qui-quadrado	O polimorfismo no gene ANXA2 rs7170178 teve frequência maior em pacientes com osteonecrose
Hatzlhofer et al. ¹⁴	MTHFR	Teste exato de Fisher, teste do qui-quadrado, OR	Não há associação (p=0,170)
Nebor et al., 2010.	Receptor DARC	Pearson, teste <i>t</i> de Student ou teste não paramétrico de Mann-Whitney	Não há associação (p=1,000)
Moreira Neto et al. ²⁵	MTHFR, fator V e protrombina	Teste não paramétrico de Mann-Whitney e teste de Fisher	Não há associação
Farawela et al. ¹⁶	Receptor DARC	Teste de Fisher, teste de Kruskal-Wallis e teste <i>t</i> de Student	Não há associação (p=1,000)
Kalai et al. ²⁸	CD36-rs1984112	Teste não paramétrico de Mann-Whitney e teste <i>t</i> de Student	Não há associação (p=1,000).
Zimmerman et al. ²⁹	Mutações trombolítica*	Teste do qui-quadrado, erro padrão e análise de CART	Não há associação (p>0,050).
Zimmerman et al. ³⁰	MTHFR e GP11a	Teste do qui-quadrado e teste <i>t</i> de Student	Não há associação (p>0,050)
Adekile et al. ³¹	MTHFR (C677T)	Não informado	A frequência do polimorfismo de MTHFR (C677T) foi a mesma com ou sem NAV (21,4%)

*Mutação trombolítica do: α -fibrinogênio (A312G), β -fibrinogênio (G448A), GPIIIa (C1565T), PAI-1 (4G), Fator VII (R353Q), MTHFR (C677T) Fator VII sequência repetida (sete repetições), Protombina (G20210A) Fator V (G1691A). NAV: necrose avascular óssea; DF: doença falciforme; BMP6: proteína morfogenética óssea 6; KL: Klotho; ANXA2: anexina A2; MTHFR: metileno tetra-hidrofolato redutase; Receptor DARC: antígeno Duffy/receptor para quimiocinas; GPIIIa: glicoproteína plaquetária; PAI-1: inibidor-1 do ativador do plasminogênio; OR: *Odds Ratio*; RR: risco relativo.

não se relaciona com o desenvolvimento de necrose óssea da cabeça femoral, ainda que esse não tenha sido um estudo específico para falcêmicos. Entretanto, Moreira Neto et al.²⁵ e Hatzlhofer et al.¹⁴ demonstraram que a presença desse polimorfismo se associava com o conjunto de complicações vasculares (síndrome torácica aguda, infarto, priapismo, úlceras em membros inferiores e osteonecrose) comumente presentes na DF. Essa relação foi também demonstrada na metanálise realizada por Lakkakula,²⁶ na qual se concluiu que existe uma associação positiva entre o polimorfismo no gene *MTHFR* e o aumento no risco de complicações vasculares em indivíduos com DF. Entretanto, não foi possível analisar cada uma dessas comorbidades individualmente.

Para a construção desta revisão, foi feita busca exaustiva na tentativa de incluir também a “literatura cinza”. Acredita-se

haver baixa probabilidade de viés de publicação diante dessa estratégia e da análise dos estudos incluídos, considerando-se critérios metodológicos e estatísticos. É preciso considerar a limitação do idioma de publicação, tendo em vista a grande incidência da DF em africanos e asiáticos, com tendência à publicação nos seus respectivos idiomas. Por fim, uma importante limitação relacionada aos artigos analisados nesta revisão é o fato de a maioria não relatar como foi determinado o tamanho amostral, o que eleva a probabilidade de falsos negativos pela possível falta de poder estatístico para demonstrar associações.

Em conclusão, existem polimorfismos genéticos possivelmente associados com a necrose óssea avascular em indivíduos com DF. As mutações nos genes *BMP6*, *ANXA2* e *KL* são as de maior evidência de acordo com os resultados obtidos.

Financiamento

O estudo não recebeu financiamento.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuição dos autores

Desenho do estudo: Leandro MP. *Coleta de dados:* Almeida ND, Hocevar LS. *Análise dos dados:* Leandro MP, Almeida ND, Hocevar LS. *Redação do manuscrito:* Leandro MP, Almeida ND, Hocevar LS. *Revisão do manuscrito:* Couto de Sá CK, Souza AJ, Matos MAA. *Supervisão do estudo:* Souza AJ, Matos MAA.

REFERÊNCIAS

- Houwing ME, Pagter PJ, Beers EJ, Biemond BJ, Rettenbacher E, Rijnveld AW, et al. Sickle cell disease: clinical presentation and management of a global health challenge. *Blood Rev*. 2019;37:100580. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.05.004>
- Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2011;108:532-40. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2011.0532>
- Pacheco AP, Goncalves M. Klotho: Its various functions and association with sickle cell disease subphenotypes. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2014;36:430-6. <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2014.07.022>
- Rosenfeld LG, Bacal NS, Cuder MA, Silva AG, Machado ÍE, Pereira CA, et al. Prevalence of hemoglobinopathies in the Brazilian adult population: National health survey 2014-2015. *Rev Bras Epidemiol*. 2019;22Suppl 02(Suppl 02):E190007. SUPPL.2. <https://doi.org/10.1590/1980-549720190007.supl.2>
- Almeida A, Roberts I. Bone involvement in sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2005;129:482-90. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05476.x>
- Silva LL, Castelar M, Matos MA. Quality of life in pediatric patients with avascular necrosis of the femoral head. *Ortop Traumatol Rehabil*. 2016;18:445-9. <https://doi.org/10.5604/15093492.1226274>
- Matos MA, Silva LL, Fernandes RB, Malheiros CD, Silva BV. Avascular necrosis of the femoral head in sickle cell disease patients. *Ortop Traumatol Rehabil*. 2012;14:155-9. <https://doi.org/10.5604/15093492.992286>
- Daltro G, Franco BA, Faleiro TB, Rosário DA, Daltro PB, Fortuna V. Osteonecrosis in sickle cell disease patients from Bahia, Brazil: a cross-sectional study. *Int Orthop*. 2018;42:1527-34. <https://doi.org/10.1007/s00264-018-3905-z>
- Fertrin KY, Costa FF. Genomic polymorphisms in sickle cell disease: implications for clinical diversity and treatment. *Expert Rev Hematol*. 2010;3:443-58. <https://doi.org/10.1586/ehm.10.44>
- National Human Genome Research Institute [homepage on the Internet]. Talking glossary of genetic terms: polymorphism [cited 2021 Apr 31]. Available from: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Polymorphism>.
- Lima JM, Serafim PV, Silva ID, Forones NM. Estudo do polimorfismo genético no gene p53 (códon 72) em câncer colorretal. *Arq Gastroenterol*. 2006;43:8-13. <https://doi.org/10.1590/S0004-28032006000100005>
- Galvão TF, Pansani TS, Harrad D. Principais itens para relatar revisões sistemáticas e meta-análises: a recomendação PRISMA. *Epidemiol Serv Saúde*. 2015;24:335-42. <http://doi.org/10.5123/S1679-49742015000200017>
- von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol*. 2007;61:344-9. <http://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2007.11.008>
- Hatzlhofer BL, Bezerra MA, Santos MN, Albuquerque DM, Freitas EM, Costa FF, et al. MTHFR polymorphic variant C677T is associated to vascular complications in sickle-cell disease. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012;16:1038-43. <http://doi.org/10.1089/gtmb.2011.0361>
- Baldwin C, Nolan VG, Wyszynski DF, Ma QL, Sebastiani P, Embury SH, et al. Association of klotho, bone morphogenetic protein 6, and annexin A2 polymorphisms with sickle cell osteonecrosis. *Blood*. 2005;106:372-5. <http://doi.org/10.1182/blood-2005-02-0548>
- Farawela HM, El-Ghamrawy M, Farhan MS, Soliman R, Yousry SM, AbdelRahman HA. Association between Duffy antigen receptor expression and disease severity in sickle cell disease patients. *Hematology*. 2016;8:474-9. <http://doi.org/10.1080/10245332.2015.1111643>
- Nebor D, Durpes MC, Mouganel D, Mukisi-Mukaza M, Elion J, Hardy-Dessources MD, et al. Association between Duffy antigen receptor for chemokines expression and levels of inflammation markers in sickle cell anemia patients. *Clin Immunol*. 2010;136:116-22. <http://doi.org/10.1016/j.clim.2010.02.023>
- Chaouch L, Kalai M, Jbara MB, Chaabene AB, Darragi I, Chaouachi D, et al. Association between rs267196 and rs267201 of BMP6 gene and osteonecrosis among sickle cell anemia patients. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2015;159:145-9. <http://doi.org/10.5507/bp.2013.080>
- Samara S, Dailiana Z, Varitimidis S, Chassanidis C, Koromila T, Malizos KN, et al. Bone morphogenetic proteins (BMPs) expression in the femoral heads of patients with avascular necrosis. *Mol Biol Rep*. 2013;40:4465-72. <http://doi.org/10.1007/s11033-013-2538-y>
- Pacheco AP, Goncalves M. Klotho: its various functions and association with sickle cell disease subphenotypes. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2014;36:430-6. <http://doi.org/10.1016/j.bjhh.2014.07.022>
- Hedhli N, Falcone DJ, Huang B, Cesarman-Maus G, Kraemer R, Zhai H, et al. The annexin A2/S100A10 system in health and disease: emerging paradigms. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:406273. <http://doi.org/10.1155/2012/406273>

22. Hayes MJ, Longbottom RE, Evans MA, Moss SE. Annexinopathies. *Subcell Biochem.* 2007;45:1-28. http://doi.org/10.1007/978-1-4020-6191-2_1
23. Kutlar A, Kutlar F, Turker I, Tural C. The methylene tetrahydrofolate reductase (C677T) mutation as a potential risk factor for avascular necrosis in sickle cell disease. *Hemoglobin.* 2001;25:213-7. <http://doi.org/10.1081/hem-100104029>
24. Chai W, Zhang Z, Ni M, Geng P, Lian Z, Zhang G, et al. Genetic association between methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and risk of osteonecrosis of the femoral head. *Biomed Res Int.* 2015;2015: 196495. <http://doi.org/10.1155/2015/196495>
25. Moreira Neto F, Lourenço DM, Noguti MA, Morelli VM, Gil IC, Beltrão AC, et al. The clinical impact of MTHFR polymorphism on the vascular complications of sickle cell disease. *Braz J Med Biol Res.* 2006;39:1291-5.
26. Lakkakula BV. Association between MTHFR 677C>T polymorphism and vascular complications in sickle cell disease: a meta-analysis. *Transfus Clin Biol.* 2019;26:284-8. <http://doi.org/10.1016/j.tracli.2019.01.003>
27. Pandey S, Ranjan R, Pandey S, Mishra RM, Seth T, Saxena R. Effect of ANXA2 gene single nucleotide polymorphism (SNP) on the development of osteonecrosis in Indian sickle cell patient: a PCR-RFLP approach. *Indian J Exp Biol.* 2012;50(7):455-8.
28. Kalai M, Dridi M, Chaouch L, Moumni I, Ouragini H, Darragi I, et al. The role of rs1984112_G at CD36 gene in increasing reticulocyte level among sickle cell disease patients. *Hematology.* 2017;22(3):178-82. <http://doi.org/10.1080/10245332.2016.1253253>
29. Zimmerman SA, Howard TA, Whorton MR, Rosse WF, James AH, Ware RE. Thrombophilic DNA mutations as independent risk factors for stroke and avascular necrosis in sickle cell anemia. *Hematology.* 2001;6(5):347-53. <http://doi.org/10.1080/10245332.2001.11746590>
30. Zimmerman SA, Ware RE. Inherited DNA mutations contributing to thrombotic complications in patients with sickle cell disease. *Am J Hematol.* 1998;59(4):267-72. [http://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-8652\(199812\)59:4<267::aid-ajh1>3.0.co;2-w](http://doi.org/10.1002/(sici)1096-8652(199812)59:4<267::aid-ajh1>3.0.co;2-w)
31. Adekile AD, Kutlar F, Haider MZ, Kutlar A. Frequency of the 677 C->T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene among Kuwaiti sickle cell disease patients. *Am J Hematol.* 2001;66(4):263-6. <http://doi.org/10.1002/ajh.1055>