



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto



Rafaela Beatriz Batista

**CARACTERIZAÇÃO *IN SILICO* DE MARCADORES MOLECULARES
ENVOLVIDOS NA REGULAÇÃO DO GENE GLOBINA NAS TALASSEMIAS DO
TIPO BETA**

São José do Rio Preto

2025

RAFAELA BEATRIZ BATISTA

**CARACTERIZAÇÃO *IN SILICO* DE MARCADORES MOLECULARES
ENVOLVIDOS NA REGULAÇÃO DO GENE GLOBINA NAS TALASSEMIAS DO
TIPO BETA**

Relatório apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, junto ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, campus de São José do Rio Preto.

Orientador(a): Profa.Dra. Claudia Regina Bonini-Domingos

Coorientador(a): Prof. Dr. Tiago Henrique

São José do Rio Preto

2025

B333c Batista, Rafaela Beatriz
Caracterização in sílico de marcadores
moleculares envolvidos na regulação do gene
globina nas talassemias do tipo beta / Rafaela
Beatriz Batista. -- São José do Rio Preto, 2025
32 p. : il., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado -
Ciências Biológicas) - Universidade Estadual
Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e
Ciências Exatas, São José do Rio Preto
Orientadora: Claudia Regina Bonini-Domingos
Coorientador: Tiago Henrique

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Dados fornecidos pelo autor(a).
1. Hemoglobinopatia. 2. Talassemia. 3. Eritrócitos.
4. Bioinformática. 5. Regulação da expressão
gênica. I. Título.

RAFAELA BEATRIZ BATISTA

**CARACTERIZAÇÃO *IN SILICO* DE MARCADORES MOLECULARES
ENVOLVIDOS NA REGULAÇÃO DO GENE GLOBINA NAS TALASSEMIAS DO
TIPO BETA**

Relatório apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, junto ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, campus de São José do Rio Preto.

Data da defesa: 05/12/2025

Banca Examinadora:

Profa. Dr(a). Claudia Regina Bonini-Domingos

UNESP - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de São José do Rio Preto.

Prof(a). Dr(a). Flavia Cristina Rodrigues Lisoni

UNESP - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de São José do Rio Preto.

Prof. Dr(a). Stefanie Oliveira de Sousa

UNESP - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de São José do Rio Preto.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho carrega um pedaço de cada pessoa que caminhou ao meu lado durante esta jornada. Nada disso teria sido possível sem o amor, o apoio e a força que recebi de pessoas muito especiais.

À minha orientadora, Prof.^a Cláudia, deixo meu agradecimento mais profundo. Obrigada pela paciência, pela dedicação e pelo comprometimento com o meu crescimento acadêmico e pessoal. Sua orientação firme e sensível foi essencial para que eu chegasse até aqui. Sou grata por cada dúvida esclarecida, cada incentivo e cada aprendizado compartilhado.

Ao meu namorado Breno, agradeço por cada palavra de incentivo, pela paciência nos meus dias de cansaço e por nunca duvidar da minha capacidade, mesmo quando eu própria duvidava, seu apoio foi de toda forma essencial nessa história.

Às minhas amigas Daniela e Bruna, que estiveram presentes com carinho, leveza e companheirismo. Obrigada por celebrarem minhas pequenas conquistas, por acolherem minhas inseguranças e por me lembrarem, tantas vezes, que eu era capaz. Vocês permaneceram quando tantos partiram, a amizade de vocês é um presente que levarei para toda a vida.

Ao meu amigo Savazo, cuja amizade sincera trouxe sorrisos e respiros necessários em meio ao turbilhão acadêmico. Obrigada por ser apoio, força e risada quando eu mais precisava.

Também deixo um agradecimento especial ao Lucas, meu “pai de faculdade”. Obrigada por toda a sabedoria compartilhada, pelos conselhos sinceros, por iluminar meus caminhos quando tudo parecia confuso e por estar presente como alguém que guia, acolhe e incentiva. Saiba que você foi lar e força para que eu levantasse a cabeça e seguisse em frente, sua presença fez toda a diferença na minha trajetória acadêmica.

Cada um de vocês deixou uma marca suave e profunda na construção deste trabalho. Agradeço por compartilharem comigo não apenas o caminho, mas também o coração.

A vocês, minha gratidão infinita.

RESUMO

A talassemia beta é uma hemoglobinopatia hereditária caracterizada pela redução ou ausência da síntese das cadeias globínicas beta, causando desequilíbrio globínico, eritropoiese ineficaz e estresse oxidativo. A compreensão dos mecanismos que regulam a expressão dos genes globina é fundamental para o desenvolvimento de estratégias diagnósticas e terapêuticas. Este estudo teve como objetivo caracterizar *in silico* os principais marcadores moleculares envolvidos na regulação dos genes globina na talassemia beta. Foram realizadas buscas sistemáticas na PubMed, seguidas de análises de enriquecimento funcional (GO e KEGG) utilizando a plataforma DAVID 6.8. Redes de interação proteína-proteína foram avaliadas nas plataformas STRING e Cytoscape, e as estruturas tridimensionais dos marcadores com maior grau de conectividade foram investigadas no PDB. Os resultados destacaram três módulos principais: (1) reguladores eritroides como *GATA1*, *KLF1*, *BCL11A* e *HBS1L-MYB*; (2) moduladores epigenéticos como *DNMT3A*, *PRMT5*, *LSD1* e o complexo NuRD; e (3) genes associados ao estresse oxidativo, incluindo *NRF2*, *SOD1*, *PRDX1* e *NOS2A*. Vias relacionadas à hematopoiese, metabolismo do heme e resposta antioxidante foram significativamente enriquecidas. Conclui-se que a interação coordenada entre fatores transcricionais, elementos epigenéticos e genes do estresse oxidativo formam o núcleo regulatório da expressão da globina β e da fisiopatologia da talassemia. A análise *in silico* desses marcadores oferece suporte para estudos experimentais e pode orientar futuras abordagens terapêuticas.

Palavras-chave: hemoglobinopatia; talassemia; eritrócitos; bioinformática; regulação da expressão gênica.

ABSTRACT

Beta-thalassemia is a hereditary hemoglobinopathy characterized by reduced or absent synthesis of beta-globin chains, leading to globin imbalance, ineffective erythropoiesis, and oxidative stress. Understanding the mechanisms regulating globin gene expression is essential for the development of diagnostic and therapeutic strategies. This study aimed to characterize, through *in silico* analysis, the main molecular markers involved in globin gene regulation in beta-thalassemia. Systematic searches were conducted in PubMed, followed by functional enrichment analyses (Gene Ontology and KEGG pathways) using the DAVID 6.8 platform. Protein–protein interaction networks were analyzed using STRING and Cytoscape, and the three-dimensional structures of highly connected markers were investigated in the Protein Data Bank (PDB). The results identified three major regulatory modules: (1) erythroid regulators, including *GATA1*, *KLF1*, *BCL11A*, and *HBS1L–MYB*; (2) epigenetic modulators, such as *DNMT3A*, *PRMT5*, *LSD1*, and the NuRD complex; and (3) oxidative stress-related genes, including *NRF2*, *SOD1*, *PRDX1*, and *NOS2A*. Pathways related to hematopoiesis, heme metabolism, and antioxidant response were significantly enriched. These findings indicate that the coordinated interaction between transcription factors, epigenetic regulators, and oxidative stress-associated genes constitutes the core regulatory network underlying β -globin expression and beta-thalassemia pathophysiology. The *in silico* analysis of these markers provides a foundation for experimental studies and may guide future therapeutic approaches.

Keywords: hemoglobinopathy; thalassemia; erythrocytes; bioinformatics; regulation of gene expression.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
1.1 Hemoglobina.....	6
1.2 Talassemias.....	10
1.2.1 Talassemia Alfa.....	11
1.2.2 Talassemia Beta.....	13
2 JUSTIFICATIVA.....	17
3 OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivo Geral.....	18
3.2 Objetivos Específicos.....	18
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
4.1 Seleção dos marcadores moleculares potenciais.....	19
4.2 Enriquecimento dos dados.....	19
4.3 Análise da interação proteína-proteína.....	20
4.4 Busca das estruturas 3D dos marcadores moleculares.....	20
4.5 Análise estrutural e validação dos modelos teóricos das proteínas.....	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
6 CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	31

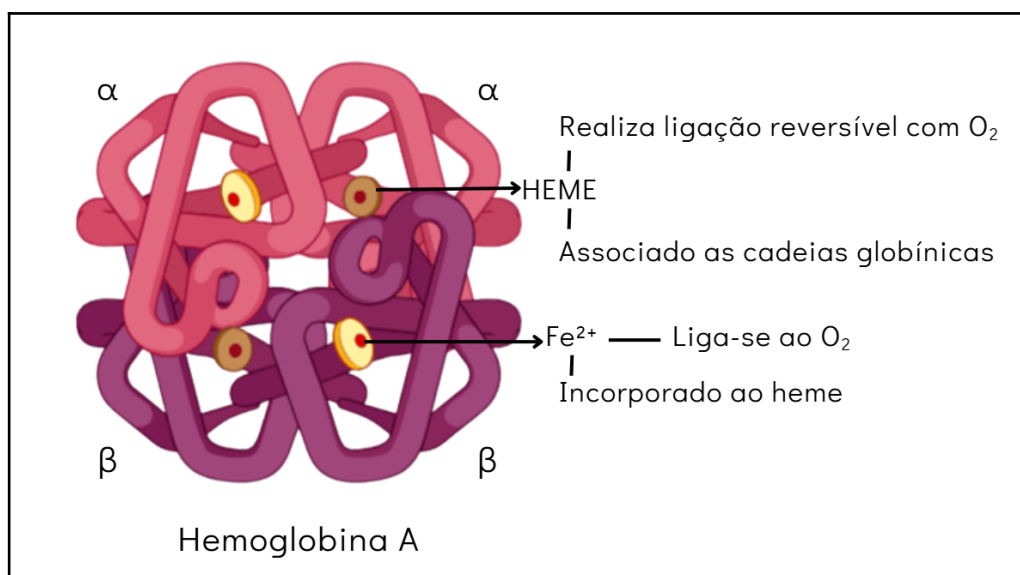
1 INTRODUÇÃO

1.1 Hemoglobina

A hemoglobina (Hb) é uma proteína tetramérica composta por quatro cadeias polipeptídicas organizadas em dois dímeros, formando um tetrâmero com massa molecular de aproximadamente 64.500 Da. Essa proteína está predominantemente presente nos eritrócitos, embora também seja encontrada em células progenitoras eritroides, macrófagos e em outros tipos celulares presentes nos alvéolos pulmonares, desempenhando funções antioxidantes e de regulação metabólica (BORELLI, 2024; SHAFIQUE et al., 2023).

Nos eritrócitos, a principal função das hemoglobinas é realizar o transporte de oxigênio (O_2) dos pulmões aos tecidos, garantindo sua disponibilidade para a produção de adenosina trifosfato (ATP). Como a difusão do O_2 é limitada em longas distâncias e sua solubilidade no plasma é baixa, a ligação reversível ao grupo heme associado a Hb torna-se essencial para o processo, tendo em vista que, nenhuma cadeia lateral de aminoácidos permite a realização dessa ligação. Cada cadeia globínica se associa ao grupo prostético heme, constituído por uma molécula de protoporfirina IX coordenada a um átomo de ferro em estado ferroso (Fe^{2+}), incorporado por ação da ferroquelatase (Figura 1). O Fe^{2+} quando incorporado ao heme apresenta dois sítios de coordenação livres, sendo um ocupado por nitrogênio da cadeia lateral de resíduo de histidina proximal e o outro destinado à ligação reversível com o O_2 (BORELLI, 2024; NELSON; COX; HOSKINS, 2022; PAWLINA, 2025).

Figura 1 - Estrutura da molécula de hemoglobina com o heme associado, Brasil, 2025

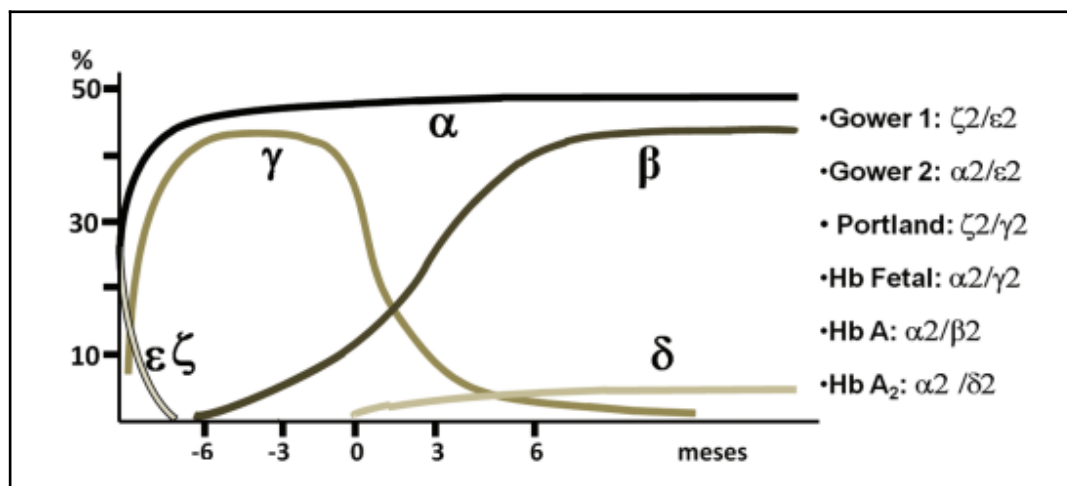


Fonte: Imagem adaptada de SHAFIQUE et al., 2023

Além do O_2 , a Hb transporta dióxido de carbono (CO_2) presente nos tecidos, formando a carbamino-hemoglobina e óxido nítrico (NO), uma molécula sinalizadora. A proteína também participa de processos de sinalização celular e modulação de respostas inflamatórias. Tais funções são adequadamente desempenhadas enquanto a Hb permanece dentro dos eritrócitos; quando liberada no plasma, a proteína se desagrega, podendo sobrecarregar sistemas antioxidantes (SHAFIQUE et al., 2023).

A estrutura da Hb apresenta organização semelhante à da mioglobina, contendo oito segmentos de α -hélice conectados (A–H). Suas cadeias globínicas são classificadas em quatro tipos principais: alfa (α), beta (β), gama (γ) e delta (δ). Diferentes hemoglobinas são produzidas conforme o estágio do desenvolvimento do indivíduo (Figura 2), dessa forma, de acordo com a ativação dos genes globina e da cadeia globínica produzida é possível identificar: Hb Gower I ($\zeta_2\varepsilon_2$), Hb Gower II ($\alpha_2\varepsilon_2$), Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$), as quais são produzidas até aproximadamente a 12ª semana de gestação e posteriormente são substituídas por Hb fetal ($\alpha_2\gamma_2$) e Hb A₂ ($\alpha_2\delta_2$), a Hb Fetal entre os 6º e 12º mês de idade é substituída por Hb A ($\alpha_2\beta_2$). Em adultos, a Hb A produzida na medula óssea corresponde a aproximadamente 96% da Hb total; a Hb A₂, a 1,5–3%; e a Hb fetal menos de 1%, sendo essa última prevalente durante o período fetal (PAWLINA, 2025; SHAFIQUE et al., 2023).

Figura 2 - Esquema da produção de hemoglobinas durante o desenvolvimento e indicação das hemoglobinas resultantes das combinações das diferentes cadeias de globinas, Brasil, 2025



Fonte: SCHEPS; VARELA, 2016

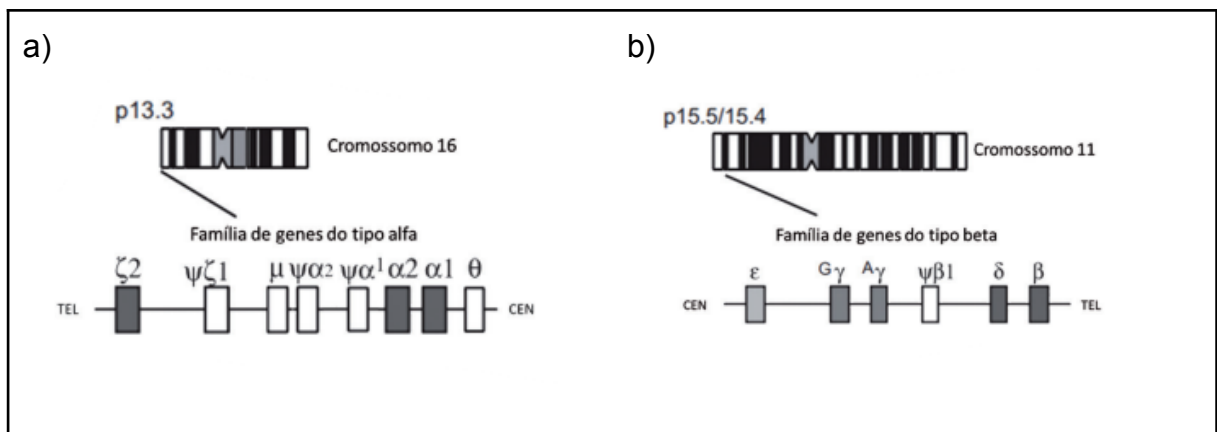
Os genes responsáveis por codificar as cadeias α e β -globina são organizados em *clusters* nos cromossomos 16 e 11, respectivamente, com orientação transcricional 5'-3'. Cada gene apresenta três éxons e dois íntrons, ou seja, três sequências codificadoras e duas sequências não codificadoras, sendo sua expressão regulada por regiões promotoras locais (*enhancers*) e pela região de controle do locus (LCR), que se ligam a fatores de transcrição como GATA-1, GATA-2, NF-E2, KLF1 e SCL, controlando a ativação dos genes. O processamento do RNA inclui o processo de *splicing*, onde ocorre a remoção dos íntrons e união dos éxons. Além disso, há a formação do capuz metilado na extremidade 5', por meio da adição de resíduos de guanina metilada, etapa importante para a proteção do RNAm contra fosfatases e nucleases, bem como para o início da síntese proteica. Também ocorre a formação da cauda poli-A na extremidade 3', resultante da adição de resíduos de adenina, que confere maior estabilidade ao RNAm e favorece seu transporte. Essas etapas são essenciais para a geração de um RNA mensageiro funcional (BRASIL, 2024; LISOT, 2003; THEIN, 2018).

A região subtelomérica do braço curto do cromossomo 16 (16p13.3) abriga o *cluster* α , composto pelos genes funcionais *zeta 2* ($\zeta 2$) (*HBZ*), *alfa 2* ($\alpha 2$) (*HBA2*) e *alfa 1* ($\alpha 1$) (*HBA1*); pelos pseudogenes não funcionais *pseudo-zeta* ($\psi\zeta$), *pseudo-alfa 2* ($\psi\alpha 2$) e *pseudo-alfa 1* ($\psi\alpha 1$); e por um gene *teta 1* ($\theta 1$), cuja função permanece

indefinida. Esses genes encontram-se organizados de acordo com o padrão de ativação ao longo do desenvolvimento embrionário, sendo dispostos da seguinte forma: 5' – $\zeta 2$ – $\psi\zeta$ – $\psi\alpha 2$ – $\psi\alpha 1$ – $\alpha 2$ – $\alpha 1$ – θ – 3' (Figura 3a).

Em indivíduos normais, o *locus* α é duplicado ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$), e os genes estruturais α_2 e α_1 sintetizam continuamente as cadeias α ao longo da vida, sendo que α_2 apresenta aproximadamente o dobro da atividade transcricional de α_1 . Na estrutura gênica, os três éxons codificam, respectivamente, 31, 67 e 42 aminoácidos, totalizando 141 aminoácidos. Por sua vez, o *cluster* β , localizado na região 11p15.5 do braço curto do cromossomo 11, é responsável pela síntese das globinas ϵ , γ , δ e β . Esse *cluster* inclui os genes funcionais *épsilon* (ϵ) (*HBE1*), *gama glicina* (γG) (*HBG2*), *gama alanina* (γA) (*HBG1*), *delta* (δ) (*HBD*) e *beta* (β) (*HBB*), além do pseudogene *pseudo-beta* ($\psi\beta$). Entre esses genes, ϵ e γ são expressos predominantemente nos estágios embrionário e fetal, respectivamente. A organização do *locus* β (β/β) segue o arranjo: 5' – ϵ – γG – γA – $\psi\beta$ – δ – β – 3' (Figura 3b) (BRASIL, 2024; LISOT, 2003).

Figura 3 - Organização estrutural da família de genes das globina alfa e beta, Brasil, 2025



Fonte: BRASIL, 2024

O conhecimento da expressão normal da Hb em cada período da vida é fundamental para a identificação de hemoglobinas anormais. Mutações que afetam a estrutura ou expressão das globinas originam hemoglobinopatias, que são doenças autossômicas monogênicas associadas a aproximadamente 3,4% da mortalidade infantil global em crianças menores de cinco anos. As hemoglobinopatias podem ser classificadas em: alterações qualitativas da estrutura da Hb (variantes),

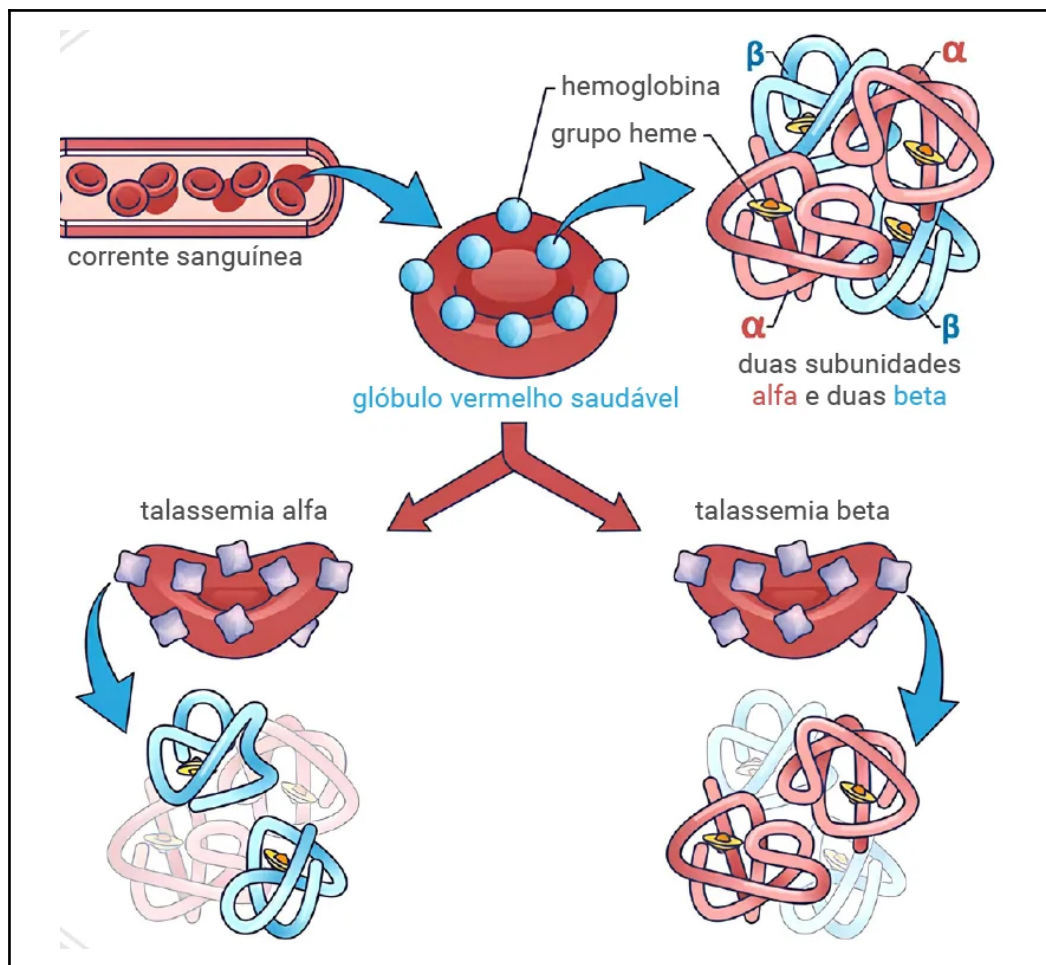
alterações quantitativas da síntese globínica (talassemias) ou persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF) (BRASIL, 2024).

1.2 Talassemias

As talassemias constituem hemoglobinopatias hereditárias quantitativas caracterizadas por redução ou ausência da síntese de uma ou mais cadeias globínicas que compõem a Hb. A deficiência quantitativa das globinas interfere na maturação eritrocitária, resultando em hipocromia, microcitose e eritropoiese ineficaz. A precipitação das cadeias globínicas em excesso leva à hemólise e à redução da sobrevivência eritrocitária, podendo ocorrer destruição celular até quinze vezes superior ao normal (BORELLI, 2024; BRASIL, 2024).

A condição talassêmica é classificada conforme a cadeia afetada, sendo as mais comuns a talassemia beta e a talassemia alfa (Figura 4), e pode se manifestar como talassemia maior, intermediária ou menor. Os indivíduos portadores silenciosos podem carregar mutações sem apresentar alterações hematológicas relevantes. No Brasil, a prevalência dessas doenças está relacionada à imigração europeia e asiática nos séculos XIX e XX (BRASIL, 2024).

Figura 4 - Estrutura da hemoglobina normal e representação das cadeias globínicas afetadas nas principais talassemias, Brasil, 2025

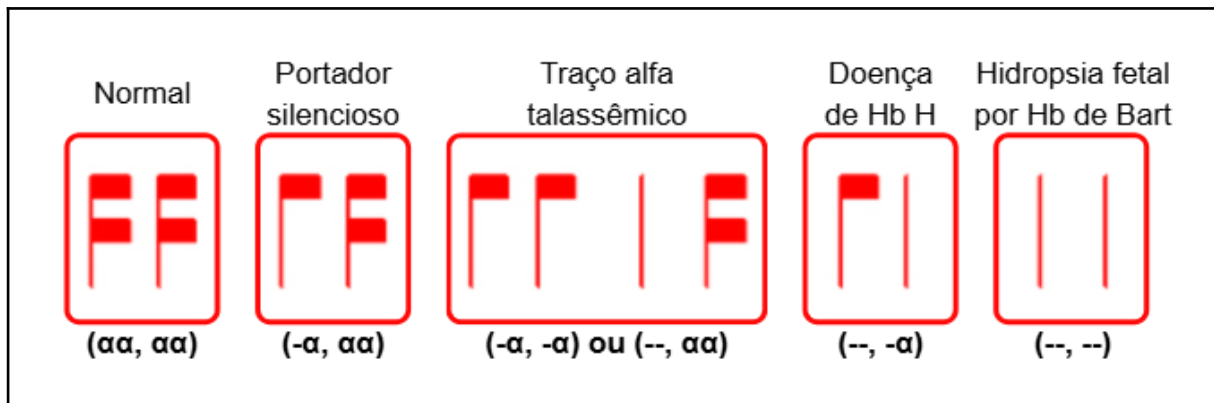


Fonte: CORDVIDA, 2024

1.2.1 Talassemia Alfa

A talassemia alfa é normalmente o resultado de mutações originadas do processo de *crossing-over* desigual nos genes estruturais α_2 e α_1 , localizados no cromossomo 16, e ocorrem devido a sua deleção parcial (α^+) ou total (α^0). Ainda, as mutações no gene α_2 resultam em fenótipos mais graves da talassemia alfa (LISOT, 2003). Os indivíduos com essa hemoglobinopatia não apresentam o genótipo esperado normal ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$) e o fenótipo é afetado, sendo classificados clinicamente em portadores silenciosos, traço de talassemia alfa, doença de hemoglobina H (Hb H) e síndrome da hidropsia fetal por hemoglobina de Bart's (Hb Bart's) (Figura 5) (BRASIL, 2024).

Figura 5 - Genótipo encontrado nas talassemias do tipo alfa, Brasil, 2025



Fonte: Imagem adaptada de DOTTO, 2005

O portador silencioso apresenta parâmetros hematológicos normais e genótipo com três genes funcionais ($-\alpha/\alpha\alpha$). Na eletroforese de Hemoglobinas ou na HPLC, indivíduos adultos podem apresentar traços de hemoglobina H (Hb H), enquanto recém-nascidos exibem traços de hemoglobina Bart's (Hb Bart's).

No traço de talassemia alfa, os parâmetros hematológicos podem ser normais ou com microcitose, hipocromia e discreta anisopoecilocitose. O genótipo típico apresenta dois genes funcionais ($-\alpha/-\alpha$ ou $--/\alpha\alpha$) e alguns dos sintomas dessa doença são a fraqueza, dores na região das pernas e a palidez; em crianças é comum encontrar uma anemia moderada, a qual quando combinada a uma microcitose moderada pode levar a falso diagnóstico de anemia ferropriva. Aproximadamente 60% dos indivíduos com o traço de talassemia alfa apresentam corpúsculos de inclusão de Hb H.

Na doença de Hb H, caracterizada pela presença de apenas um gene funcional ($--/-\alpha$), ocorre excesso de cadeias β , resultando na formação do tetrâmero beta (β_4), o qual dá origem Hb H. Trata-se de uma anemia hemolítica crônica de grau variado, e o quadro clínico mais comum nesta doença é de indivíduos com anemia microcítica e hipocrômica, icterícia e hepatoesplenomegalia. Entre as complicações possíveis estão a úlcera nas pernas, os cálculos biliares, as alterações ósseas e tumores hematopoéticos.

Na síndrome da hidropsia fetal por hemoglobina de Bart's, na qual não apresenta nenhum gene funcional ($--/--$), as cadeias livres se ligam formando tetrâmeros instáveis, como o tetrâmero de gama globinas (γ_4), o qual origina a Hb

Bart's com concentração eletroforética entre 80% a 100%,. Essa hemoglobina é incapaz de liberar oxigênio aos tecidos, tornando a condição incompatível com a vida e resultando em hidropsia fetal e morte intrauterina. Em raríssimos casos de nascimento com vida, o recém-nascido apresenta palidez intensa, edema generalizado e evolui rapidamente a óbito por insuficiência cardiorrespiratória (BORELLI, 2024; BRASIL, 2024; LISOT, 2003).

As hemoglobinas H e Bart's formadas em alguns casos clínicos de talassemia alfa são instáveis e se precipitam na membrana celular dos eritrócitos. Além disso, apresentam elevada afinidade pelo O_2 , o que compromete sua liberação aos tecidos e resulta na hipóxia. A diminuição da oferta de O_2 estimula a síntese de eritropoetina, na tentativa de aumentar a produção de eritrócitos e corrigir a anemia decorrente tanto da destruição das hemácias contendo hemoglobinas instáveis quanto da ineficiência no transporte de O_2 . A medula óssea nesse caso receberá constantemente o estímulo da eritropoetina visto que os novos eritrócitos produzidos vão apresentar os mesmos problemas dos anteriores, dessa forma em casos mais graves pode ocorrer a expansão medular e deformidades ósseas (BRASIL, 2024).

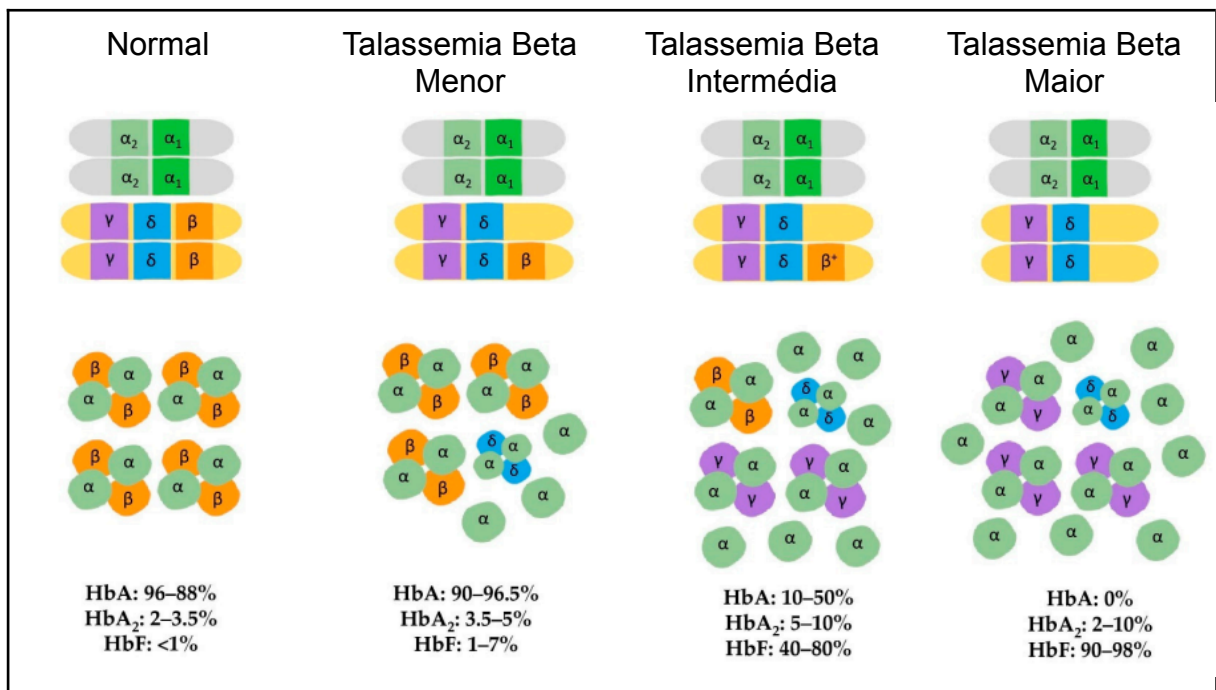
1.2.2 Talassemia Beta

A talassemia beta é consequência de alterações genéticas que impactam a produção das cadeias globínicas beta, a principal causa da condição ocorre devido a mutações pontuais que causam redução (β^+) ou ausência (β^0) da respectiva cadeia globínica. Essas mutações também interferem em processos como transcrição, processamento, transporte e tradução de RNAs mensageiros, e já foram descritas mais de 250 mutações da talassemia beta. No Brasil nessa perspectiva são encontrados nas regiões Sul e Sudeste os alelos β^{039} (C $\rightarrow$ T), $\beta^+IVS-I-6$ (T $\rightarrow$ C), $\beta^+IVS-I-110$ (G $\rightarrow$ A) e $\beta^0IVS-I-1$ (G $\rightarrow$ A) e na região do Nordeste o alelo $\beta^+IVS-I-5$ (G $\rightarrow$ C) (BRASIL, 2024; LISOT, 2003).

Nessa condição, devido à ausência ou redução das globinas β , existe um excesso relativo das globinas α que podem combinar com as globinas δ e γ . Essa combinação leva ao aumento das hemoglobinas A_2 ($\alpha_2\delta_2$), que encontra-se aumentada em aproximadamente 95% dos casos de talassemia beta, e fetal ($\alpha_2\gamma_2$), conforme ilustrado na Figura 6. Além disso, esse excesso de globinas α se precipita

dentro dos eritrócitos no período de eritropoiese e danifica a membrana celular, causando a hemólise dos eritrócitos e consequente anemia. Em resposta, há um aumento da eritropoiese mas o processo é ineficaz tendo em vista que grande parte dos eritrócitos formados sofrem hemólise. Nesse processo de destruição são liberados Fe e o grupo heme, promovendo danos oxidativos nos eritrócitos devido a produção de espécies reativas ao O_2 , comprometendo portanto a capacidade da célula de se ligar ao O_2 (BRASIL, 2024; LISOT, 2003).

Figura 6 - Desequilíbrio na produção de hemoglobinas devido a ausência dos genes Brasil, 2025



Fonte: ZAKARIA, et al., 2021

As talassemias são distúrbios hereditários autossômicos, sendo a talassemia beta o fenótipo clínico detectável na maioria dos casos quando se trata de condição autossômica recessiva, portanto com a presença de dois genes anormais. Entretanto, algumas hemoglobinas estruturalmente variantes de transmissão autossômica dominante, como as hemoglobinas Florida e Houston, também podem produzir um fenótipo semelhante ao da talassemia ((BRASIL, 2024; LISOT, 2003).

A talassemia beta apresenta diferentes manifestações clínicas e laboratoriais, permitindo sua classificação clínica em três formas principais: talassemia beta menor

(heterozigota), talassemia beta intermédia e talassemia beta maior (BRASIL, 2024; LISOT, 2003).

A talassemia beta menor, ou heterozigota, resulta da presença de apenas um alelo mutado (β^+/β ou β^0/β). Laboratorialmente, é caracterizada por redução do volume corpuscular médio (VCM) e da hemoglobina corpuscular média (HCM), configurando uma anemia microcítica e hipocrômica. Além disso, é observado o aumento da resistência osmótica dos eritrócitos, decorrente de alterações na membrana celular, além de níveis elevados de Hb A₂ e Hb fetal. Clinicamente, esses indivíduos podem apresentar sintomas como artralgia, fadiga e astenia. Em exames de rotina, a talassemia beta menor é frequentemente confundida com anemia ferropriva, devido ao perfil hematológico semelhante (BRASIL, 2024; LISOT, 2003).

A talassemia beta intermédia, também conhecida como talassemia beta não dependente de transfusão (β -NDT), geralmente ocorre em indivíduos homozigotos para mutações leves (β^+/β^+) ou heterozigotos compostos (β^0/β^+). Essa forma pode resultar da interação com deleções α^+ ou α^0 (co-heterozigose α -talassêmica), da presença de persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF), ou da combinação com variantes estruturais da hemoglobina, como a Hb E. O quadro clínico é variável, mas costuma ser menos grave que na forma maior, com necessidade ocasional de transfusões (BRASIL, 2024; LISOT, 2003).

A talassemia beta maior, ou talassemia beta dependente de transfusão (β -DT), decorre de mutações homozigotas graves (β^0/β^0), que levam à ausência completa de síntese das cadeias β . Laboratorialmente, apresentam níveis muito elevados de Hb F (70–90%), Hb A₂ e, em alguns casos, pequenas quantidades de Hb A. Quando não tratados adequadamente, os pacientes podem desenvolver deformidades ósseas, hepatoesplenomegalia, distúrbios cardíacos e alterações endócrinas. Portanto, a consequência é uma anemia grave causada por hemólise intramedular intensa, frequentemente associada ao acúmulo progressivo de Fe, exigindo terapia quelante. As manifestações clínicas surgem geralmente ainda nos primeiros meses de vida, e antes da implementação de terapias adequadas a doença frequentemente evoluía para óbito precoce, sobretudo por insuficiência ou infecções cardíacas. Atualmente, com regimes transfusionais regulares e uso de quelantes do ferro para controle da sobrecarga de ferro, os indivíduos alcançam idade adulta com melhor qualidade de vida. (BRASIL, 2024; LISOT, 2003).

Diante do exposto, a caracterização *in silico* dos marcadores moleculares envolvidos na regulação do gene globina nas talassemias do tipo beta revela-se de grande relevância científica e clínica, ao integrar conhecimentos estruturais, genéticos e regulatórios que sustentam a fisiopatologia desta hemoglobinopatia. Assim, o estudo reforça a importância da bioinformática como ferramenta estratégica na pesquisa em hemoglobinopatias, contribuindo para o avanço do conhecimento e para o desenvolvimento de abordagens inovadoras no diagnóstico e manejo da talassemia beta.

2 JUSTIFICATIVA

A realização deste estudo justifica-se pelo vasto volume de dados moleculares atualmente disponíveis na literatura, o que possibilita sua aplicação no avanço da pesquisa e no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. A análise desses dados é essencial para aprofundar a compreensão dos mecanismos de regulação gênica, especialmente no que diz respeito aos genes da família globina, cuja expressão adequada é fundamental para a produção normal da hemoglobina.

No contexto das talassemias beta, a identificação de alvos moleculares envolvidos na desregulação do gene da globina β é especialmente relevante, pois fornece subsídios para estratégias diagnósticas mais precisas e para o desenvolvimento de intervenções terapêuticas direcionadas. Dessa forma, este trabalho sobre a “Caracterização *in silico* de marcadores moleculares envolvidos na regulação do gene globina nas talassemias do tipo beta” busca contribuir para o entendimento detalhado dos mecanismos genéticos associados à doença, ampliando o conhecimento científico e oferecendo suporte para futuras pesquisas e aplicações clínicas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O presente estudo teve como objetivo geral aplicar técnicas de bioinformática para avaliar marcadores moleculares que atuam na regulação dos genes globina nas talassemias do tipo beta.

3.2 Objetivos Específicos

- a) Selecionar potenciais alvos moleculares que atuam na regulação de genes globina em dados da literatura científica.
- b) Gerar modelos teóricos por modelagem molecular de marcadores moleculares selecionados.
- c) Identificar vias metabólicas, processos biológicos e funções moleculares dos marcadores moleculares selecionados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Seleção dos marcadores moleculares potenciais

A seleção dos marcadores moleculares potenciais foi realizada mediante busca sistemática na base de dados PubMed, utilizando descritores *Medical Subject Headings* (MeSH), relacionados à talassemia beta. Os termos empregados foram: *beta-thalassemia/genetics*, *beta-Globins/genetics*, *beta-thalassemia/complications*, *beta-thalassemia/diagnosis*, *beta-thalassemia/etiology*, *beta-thalassemia/therapy*, *amino acid sequence*, *base sequence*, *alleles*, *CRISPR-Cas systems*, *carrier proteins/genetics*, *enhancer elements*, *genetic*, *erythroid precursor cells/metabolism*, *fetal hemoglobin/biosynthesis*, *fetal hemoglobin/genetics*, *genetic editing/methods*, *hematopoietic stem cell transplantation*, *hematopoietic stem cells/metabolism*, *nuclear proteins/genetics*, *beta-thalassemia/blood*, *beta-thalassemia/genetics*, *beta-thalassemia/therapy*, *mutation/genetics*, *RNA/genetics*, *beta-Globins/deficiency* e *beta-Globins/genetics*.

Esses descritores orientaram a identificação dos genes e proteínas envolvidos na fisiopatologia e regulação da talassemia beta.

4.2 Enriquecimento dos dados

O *Gene Ontology* (GO) (ASHBURNER et al., 2000; THE GENE ONTOLOGY CONSORTIUM, 2021) e o banco de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) (KANEHISA et al., 2017) foram utilizados para caracterização funcional dos marcadores diferencialmente expressos.

As análises de enriquecimento funcional foram conduzidas na plataforma *Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery* – DAVID 6.8 (HUANG et al., 2009a; HUANG et al., 2009b). Foram considerados estatisticamente significativos os processos biológicos e vias metabólicas com valor ajustado de $p \leq 0,05$.

4.3 Análise da interação proteína-proteína

A rede de interação proteína–proteína foi avaliada utilizando o banco de dados STRING v11 (SZKLARCZYK et al., 2019). Em seguida, os dados foram importados para o software Cytoscape (SHANNON et al., 2003), que permitiu a visualização e análise das interações proteicas.

Foram selecionados para análise aprofundada os nodes que apresentaram *degree* > 10, sendo este definido como o número total de conexões associadas ao respectivo nó dentro da rede.

A identificação de sub-redes altamente interconectadas foi realizada com o plugin *Molecular Complex Detection* – MCODE (BADER; HOGUE, 2003), utilizando parâmetros default: k-core = 2, node score cutoff = 0,2 e max depth < 100.

4.4 Busca das estruturas 3D dos marcadores moleculares

A busca por estruturas tridimensionais das proteínas codificadas pelos marcadores moleculares foi realizada no *Protein Data Bank* – PDB (BERMAN et al., 2000). Caso a proteína não possuísse estrutura experimental disponível, procedeu-se à modelagem estrutural por homologia, empregando o software MODELLER (ŠALI; BLUNDELL, 1993; MARTI-RENOM et al., 2000; WEBB; SALI, 2016).

4.5 Análise estrutural e validação dos modelos teóricos das proteínas

A qualidade estrutural dos modelos obtidos foi avaliada utilizando os programas PROCHECK (LASKOWSKI et al., 1993, 1996), WHATCHECK (HOOFT et al., 1996), VERIFY 3D (EISENBERG et al., 1997) e CCP4 (WINN et al., 2011). Essas ferramentas permitiram identificar erros grosseiros, como deslocamentos de cadeias laterais e anomalias estereoquímicas locais, além de gerar parâmetros de validação referentes à qualidade global dos modelos teóricos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca sistemática realizada para o período de 2000 até o presente, permitiu identificar 28 marcadores moleculares utilizando os descritores MeSH previamente definidos, identificando genes e proteínas potencialmente envolvidos na fisiopatologia, nos mecanismos regulatórios e processos adaptativos da talassemia beta. Com base na literatura especializada e nos descritores selecionados, foram definidos como marcadores moleculares de interesse os seguintes genes e complexos regulatórios: *HBB*, *ZBTB7A (LRF)*, *BCL11A*, *KLF1*, *SOX6*, LCR, complexo NuRD, *DNMT3A*, *PRMT5*, *FOP1*, *GATA1*, *HBG1*, *HBG2*, *MAP3K5*, *NOS2A*, *ARG2*, *FLT1*, *BACH1*, *IGSF4*, *LARP2*, *NRF2*, *TRX1*, *PRDX1*, *SOD1*, *LSD1*, *ZNF148*, *TFIIH/XPD* e *HBS1L-MYB*. Esses marcadores foram selecionados por sua participação documentada em vias relacionadas à eritropoiese, à regulação das hemoglobinas, resposta ao estresse oxidativo, remodelamento epigenético e mecanismos moleculares associados às manifestações clínicas da talassemia beta.

A caracterização funcional dos genes diferencialmente expressos foi realizada por meio do *Gene Ontology* (GO) e das vias metabólicas KEGG, dados organizados na Tabela 1. Os resultados permitiram identificar três módulos biológicos principais: O primeiro módulo, relacionado à eritropoiese e ao transporte de oxigênio, o qual inclui genes estruturais das hemoglobinas (*HBB*, *HBG1*, *HBG2*) e reguladores centrais da expressão no locus β -globina (*GATA1*, *KLF1*, *SOX6*, *BCL11A*, *ZBTB7A (LRF)*, *HBS1L-MYB*). Esses genes foram associados a processos GO como diferenciação eritroide e transporte de O_2 . O segundo módulo correspondeu à regulação epigenética, englobando *DNMT3A*, *PRMT5*, *LSD1* e componentes do complexo NuRD, relacionados a processos de metilação, desmetilação e remodelamento de cromatina, fundamentais para o silenciamento das globinas fetais. O terceiro módulo consistiu em genes associados à resposta ao estresse oxidativo, incluindo *NRF2*, *SOD1*, *PRDX1*, *TXN*, *NOS2A*, *ARG2* e *MAP3K5*, distribuídos em termos GO como resposta ao estresse oxidativo.

A análise KEGG indicou enriquecimento principalmente nas vias: linhagem de célula hematopoiéticas, metabolismo de porfirinas e heme, sinalização MAPK e vias antioxidantes, reforçando a integração entre regulação transcricional, síntese de heme, homeostase redox e maturação eritroide.

Tabela 1. Análise de enriquecimento funcional dos marcadores moleculares segundo: Gene Ontology (GO) e KEGG, Brasil, 2025.

Gene	Principais termos GO	Vias KEGG relevantes	Função biológica
<i>HBB</i>	Transporte de O ₂ /ligação ao heme	Metabolismo de porfirina e heme	Globina β adulta
<i>HBG1/2</i>	Transporte de O ₂	Regulação da Hb fetal	Globina γ
<i>GATA 1</i>	Diferenciação eritroide/regulação da transcrição	Linhagem hematopoiética	Regulador mestre eritroide
<i>KLF1</i>	Diferenciação eritroide	Linhagem hematopoiética	Ativador de <i>HBB</i>
<i>BCL11A</i>	Repressão gênica	Transição Hb fetal/Hb A (switching da Hb)	Repressão de <i>HBG1/2</i>
<i>ZBTB7A (LRF)</i>	Repressão dependente de cromatina		Cofator do silenciamento fetal
<i>SOX6</i>	Regulação da eritropoiese		Cofator de repressão da globina γ
LCR	Enhancer regulatório		Amplificação da transcrição
NuRD	Remodelamento da cromatina		Repressão epigenética
<i>DNMT3A</i>	Metilação do DNA		Repressão
<i>PRMT5</i>	Atividade de metilação de histonas		Silenciamento do <i>HBG</i>
<i>LSD1</i>	Desmetilase		Repressão/ativação
<i>ZNF148</i>	Regulação da transcrição		Cofator de controle gênico
TFIIH/XPD	Início da transcrição		Maquinaria de transcrição
<i>HBS1L-MYB</i>	Eritropoiese	Linhagem hematopoiética	Regula a produção de Hb fetal
<i>NRF2</i>	Resposta ao estresse oxidativo	Antioxidante	Ativa os genes antioxidantes
<i>SOD1</i>	Detoxificação de ROS (espécies reativas ao O ₂)	Metabolismo da glutatona	Neutraliza superóxido
<i>TRX1</i>	Ciclo redox	Antioxidante	Sistema tiorredoxina
<i>PRDX1</i>	Peroxidase	Antioxidante	Remove peróxidos
MAP3K5	Estresse celular	Sinalização MAPK	Apoptose eritroide

<i>NOS2A</i>	Síntese de óxido nítrico	Metabolismo de arginina/óxido nítrico	Estresse nitrosativo
<i>ARG2</i>	Metabolismo de arginina	Metabolismo de arginina	Regula o óxido nítrico
<i>FLT1</i>	Angiogênese	Linhagem hematopoiética	Regulação da eritropoiese
<i>BACH1</i>	Sensor de heme	Metabolismo porfirina/heme	Reprime HMOX e genes envolvidos na via do heme
<i>IGSF4</i>	Adesão celular		Interações eritroides
<i>LARP2</i>	Ligação ao RNA		Estabilidade do RNAm

Fonte: ASHBURNER et al., 2000; THE GENE ONTOLOGY CONSORTIUM, 2021; KANEHISA et al., 2017

A análise de enriquecimento funcional conduzida na plataforma DAVID 6.8 (Tabela 2) considerando significância estatística para valores ajustados de $p \leq 0,05$, permitiu identificar processos biológicos, componentes celulares e vias metabólicas associados ao conjunto de genes avaliados. Os termos encontrados se concentram em mecanismos relacionados ao estresse oxidativo, à regulação da expressão gênica e organização estrutural vinculada à eritropoiese.

Tabela 2. Análise de enriquecimento funcional conduzida por meio da plataforma DAVID 6.8, integrando termos do *Gene Ontology*, abrangendo Processos Biológicos (PB) e Componentes Celulares (CC) e das vias metabólicas KEGG, Brasil, 2025

Categoria	Termo	Genes	P-Value	Fold Enrichment
Gene Ontology (PB)	Processo catabólico de peróxido de hidrogênio	24%	$1,47 \times 10^{-6}$	163,68
Gene Ontology (PB)	Transporte de dióxido de carbono	18%	$5,72 \times 10^{-5}$	245,52
Gene Ontology (PB)	Transporte de oxigênio	18%	$7,54 \times 10^{-5}$	214,83
Gene Ontology (PB)	Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II	35%	$7,9 \times 10^{-4}$	7,18
Gene Ontology (PB)	Regulação negativa da transcrição dependente de DNA	29%	$1,02 \times 10^{-3}$	10,00

Gene Ontology (PB)	Regulação da transcrição pela RNA polimerase II	41%	$1,68 \times 10^{-3}$	4,69
Gene Ontology (PB)	Desintoxicação de oxidantes celulares	18%	$1,7 \times 10^{-3}$	45,83
Gene Ontology (PB)	Regulação negativa da expressão gênica via ilhas CpG	12%	$1,31 \times 10^{-2}$	143,22
Gene Ontology (PB)	Remoção de radicais superóxido	12%	$1,31 \times 10^{-2}$	134,80
Gene Ontology (PB)	Resposta ao peróxido de hidrogênio	18%	$3,08 \times 10^{-2}$	60,30
Gene Ontology (PB)	Agregação plaquetária	12%	$3,95 \times 10^{-2}$	46,77
Gene Ontology (PB)	Regulação da transcrição dependente de DNA	24%	$4,35 \times 10^{-2}$	4,68
Gene Ontology (PB)	Comprometimento do destino celular	12%	$4,58 \times 10^{-2}$	40,20
Gene Ontology (PB)	Diferenciação de eritrócitos	12%	$4,74 \times 10^{-2}$	38,84
Gene Ontology (PB)	Regulação da pressão arterial	12%	$6,22 \times 10^{-2}$	29,38
Gene Ontology (PB)	Regulação positiva da transcrição por RNA polimerase II	24%	$7,23 \times 10^{-2}$	3,80
Gene Ontology (CC)	Complexo haptoglobina-hemoglobina	18%	$4,31 \times 10^{-5}$	282,29
Gene Ontology (CC)	Complexo hemoglobina	18%	$5,79 \times 10^{-5}$	244,65
Gene Ontology (CC)	Nucleoplasma	53%	$6,45 \times 10^{-3}$	2,68
Gene Ontology (CC)	Núcleo	65%	$7,16 \times 10^{-3}$	2,15
Gene Ontology (CC)	Cromatina	29%	$9,42 \times 10^{-3}$	5,40
Gene Ontology (CC)	Citosol	59%	$1,43 \times 10^{-2}$	2,14

Gene Ontology (CC)	Citoplasma	59%	$1,99 \times 10^{-2}$	2,04
Gene Ontology (CC)	Matriz nuclear	12%	$9,62 \times 10^{-2}$	18,68
KEGG	Peroxissomo	12%	$5,7 \times 10^{-2}$	29,38
KEGG	Amebíase	12%	$7,03 \times 10^{-2}$	23,67

Fonte: SZKLARCZYK et al., 2019

Nos processos biológicos, foi observado forte enriquecimento de vias associadas ao estresse oxidativo, incluindo o processo catabólico de peróxido de hidrogênio, remoção de radicais superóxido, desintoxicação de oxidantes celulares e resposta ao peróxido de hidrogênio. Esses processos envolveram principalmente os marcadores moleculares *NRF2*, *SOD1*, *PRDX1* e *NOS2A*.

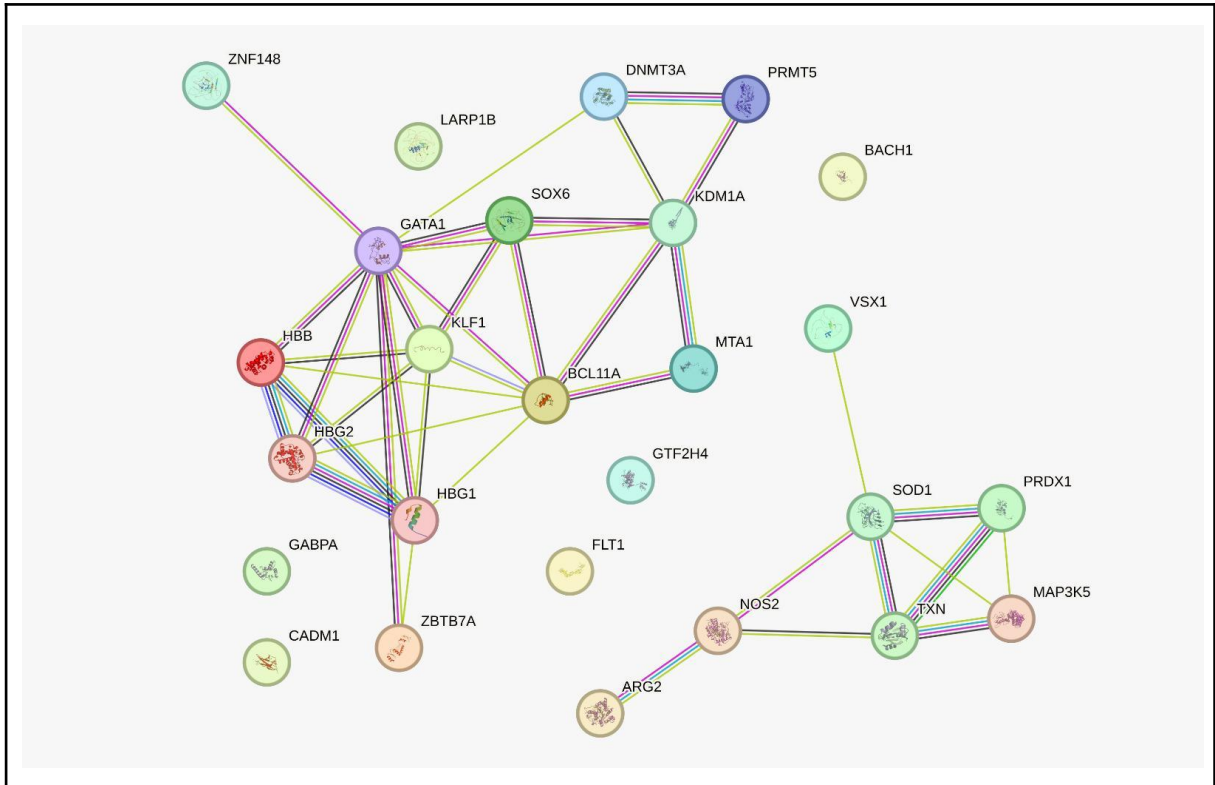
Em relação à regulação gênica, foram identificados termos relacionados à regulação negativa da transcrição dependente de DNA, modulação via RNA polimerase II e controle epigenético mediado por ilhas CpG. Esses processos mostraram associação com fatores regulatórios eritroides e epigenéticos, incluindo *GATA1*, *KLF1*, *BCL11A*, *HBS1L-MYB*, *DNMT3A*, *PRMT5*, *LSD1* e o complexo NuRD.

Nos componentes celulares, houve enriquecimento em termos relacionados ao complexo haptoglobina-hemoglobina, cromatina, núcleo e nucleoplasma, mostrando a participação de proteínas estruturais e epigenéticas envolvidas no metabolismo do heme e na regulação da expressão da beta-globina.

As vias KEGG significativamente enriquecidas incluíram as vias do peroxissomo, associada à degradação de peróxidos, e da amebíase, que agrupou genes envolvidos em remodelamento estrutural e resposta ao estresse celular.

A rede de interação proteína-proteína foi construída utilizando o banco de dados STRING v11 (Figura 7), com marcadores moleculares previamente selecionados para o estudo. A análise revelou organização modular da rede, composta por agrupamentos funcionais relacionados à regulação eritroide, ao controle epigenético e à resposta ao estresse oxidativo.

Figura 7 - Rede de interação proteína-proteína obtida pelo STRING v11, Brasil, 2025



Fonte: STRING v11, 2025

A análise da rede de interação proteína-proteína (STRING) evidenciou três módulos funcionais distintos formados pelos marcadores moleculares avaliados. O módulo central composto predominantemente por reguladores transcricionais eritroides, incluindo *GATA1*, *KLF1*, *BCL11A*, *SOX6* e *ZBTB7A* (*LRF*), além dos genes globínicos *HBB*, *HBG1* e *HBG2*. Esses genes apresentaram alta conectividade entre si, configurando-se como *hubs* funcionais e indicando atuação cooperativa no controle da expressão do *cluster* β -globina, especialmente no processo de troca de hemoglobina fetal para adulta (*hemoglobin switching*).

Um segundo agrupamento reuniu proteínas envolvidas em mecanismos de regulação epigenética, como *DNMT3A*, *PRMT5*, *KDM1A* e *MTA1*, as quais estabeleceram interações diretas com reguladores transcricionais, especialmente *BCL11A* e *SOX6*. A disposição desses elementos na rede sugere a participação de complexos epigenéticos repressivos no silenciamento das globinas fetais, processo crucial para modulação dos níveis de Hb fetal em indivíduos com talassemia beta.

O terceiro módulo identificado correspondeu ao conjunto de proteínas associadas à resposta ao estresse oxidativo, incluindo *TXN*, *PRDX1*, *SOD1*, *NOS2* e

MAP3K5. Este agrupamento indica ativação de mecanismos antioxidantes típicos de condições de eritropoiese ineficaz, hemólise e acúmulo de ferro, fenômenos característicos da fisiopatologia das talassemias.

Foram observados também genes de menor centralidade, como *BACH1*, *ZNF148*, *LARP1B*, *VSX1*, *GTF2H4*, *CADM1* e *GABPA*, que, embora apresentem menor número de conexões, podem desempenhar funções moduladoras ou integrar vias secundárias relacionadas à regulação eritroide.

Assim, a rede obtida revela três núcleos funcionais principais: regulação eritroide, regulação epigenética e resposta ao estresse oxidativo, evidenciando a integração entre diferentes vias envolvidas na modulação da expressão da globina β e manutenção da homeostase eritroide.

A compreensão atual das talassemias beta revela que a doença resulta de um desequilíbrio profundo entre a produção das cadeias de globinas α e β da hemoglobina, desencadeando estresse oxidativo, apoptose eritroide e anemia ineficaz. Entretanto, avanços significativos no entendimento dos mecanismos regulatórios do locus β -globina têm ampliado o repertório de alvos terapêuticos capazes de reativar a Hb fetal, estratégia considerada promissora para o manejo clínico da doença (SCHEPS; VARELA, 2020; ZAKARIA et al., 2023).

Entre os principais reguladores transcricionais, *BCL11A* é destacado como o repressor mais potente dos genes *HBG1/HBG2*, sendo crucial para o silenciamento da Hb fetal após o nascimento. Evidências indicam que a repressão parcial desses genes é suficiente para aumentar clinicamente os níveis de Hb fetal, razão pela qual é considerado um dos alvos mais relevantes para terapias de edição gênica modernas, como CRISPR-Cas9 (NAOUM, 2001; ZAKARIA et al., 2023). A expressão de *BCL11A* depende diretamente de *KLF1*, regulador mestre da eritropoiese, que também influencia genes da diferenciação eritroide e síntese de hemoglobinas (SCHEPS; VARELA, 2020). Da mesma forma, *SOX6* atua como co-repressor da globina gama, cooperando com *BCL11A* e complexos epigenéticos para reforçar a transição Hb fetal-adulto (SCHEPS; VARELA, 2020; DUTRA, 2005).

Além desses fatores, outros reguladores como *MYB*, *HBS1L-MYB*, *ZNF148* e *TFIIH/XPD* complementam a rede transcricional, participando da modulação fina da eritropoiese e acessibilidade cromatínica ao longo do desenvolvimento hematopoiético. Polimorfismos em regiões como *HBS1L-MYB* estão diretamente associados à variabilidade clínica entre pacientes com talassemia beta, refletindo

seu impacto sobre os níveis de Hb fetal (DOTTO; SILVA, 2005; ZAKARIA et al., 2023).

No nível epigenético, são destacados mecanismos que envolvem metilação de DNA e modificações de histonas. O complexo NuRD, recrutado por *GATA1/FOG1*, exerce papel fundamental no silenciamento da globina γ por meio de desacetilação e remodelamento de cromatina (SCHEPS; VARELA, 2020). Paralelamente, enzimas como *DNMT3A*, *PRMT5*, *LSD1* e *FOP1* participam da deposição de marcas repressoras, incluindo metilações de histona (H3K9me) e metilação de DNA em regiões do locus β -globina, consolidando o estado adulto de expressão (ZAKARIA et al., 2023). A manipulação farmacológica ou genética desses moduladores surge como alternativa estratégica para reativar a Hb fetal.

Os elementos *cis* também desempenham papel decisivo na regulação do *cluster* β -globina. A região de controle do locus (LCR), por exemplo, atua no recrutamento de fatores essenciais e garante a ativação sequencial dos genes globínicos durante o desenvolvimento embrionário, fetal e adulto. Mutações nos motivos promotores CACCC e ATAAA do gene *HBB* podem reduzir a expressão basal, contribuindo para formas leves ou silenciosas de talassemia beta (DOTTO; SILVA, 2005). Variantes nos promotores das globinas gama, como mutações associadas a persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF), demonstram que pequenas alterações estruturais são capazes de manter a Hb fetal elevada na vida adulta, reforçando a relevância terapêutica desses elementos (SCHEPS; VARELA, 2020).

Em paralelo aos mecanismos regulatórios transcricionais e epigenéticos, vias de sinalização como p38 MAPK e PKC influenciam diretamente o estado funcional do locus β -globina, modulando processos de sobrevivência eritroide e expressão gênica durante o estresse hematopoiético (ZAKARIA et al., 2023). Genes envolvidos no estresse oxidativo, como *NRF2*, *MAP3K5*, *SOD1*, *PRDX1*, *TXN* e *NOS2A*, contribuem para modular a severidade do fenótipo clínico, visto que, a eritropoiese ineficaz induz danos oxidativos amplificados (DOTTO; SILVA, 2005; ZAKARIA et al., 2023).

Esses avanços no entendimento molecular do locus β -globina fundamentam o desenvolvimento de novas terapias. A edição gênica, especialmente com CRISPR-Cas9, tem sido aplicada para:

(a) inativação de *enhancers* de *BCL11A*;

(b) criação de mutações tipo HPFH nos promotores de *HBG1/HBG2*;

(c) correção direta de mutações em *HBB* (ZAKARIA et al., 2023).

As terapias epigenéticas mostram resultados promissores no manejo das hemoglobinopatias. Inibidores de DNMTs, como decitabina, induzem desmetilação e reativam a expressão de globina γ , enquanto inibidores de histona desacetilase promovem um estado mais aberto da cromatina, favorecendo a transcrição de genes fetais (SCHEPS; VARELA, 2020). A hidroxiureia, já amplamente utilizada, atua por mecanismos múltiplos envolvendo estresse eritroide, MAP3K5 e vias oxidativas que resultam no aumento de Hb fetal (ZAKARIA et al., 2023).

Por fim, estratégias mais recentes incluem siRNA, microRNAs, terapias gênicas com vetores virais e moduladores de fatores de transcrição específicos, ampliando o leque de possibilidades terapêuticas a serem estudadas (NAOUM, 2001; ZAKARIA et al., 2023).

Assim, a partir da integração dos fatores transcricionais, reguladores epigenéticos, elementos *cis* e vias de sinalização, a talassemia beta envolve uma arquitetura regulatória complexa que oferece múltiplos pontos de intervenção. O crescente entendimento dessa rede tem impulsionado terapias inovadoras voltadas à reativação de Hb fetal e correção genética do locus β -globina, representando avanços significativos rumo a tratamentos mais eficazes e possivelmente curativos.

6 CONCLUSÃO

A integração das abordagens de enriquecimento funcional baseadas em *Gene Ontology* (GO) e KEGG permitiu delinear, de maneira sistemática, os principais eixos biológicos que sustentam a fisiopatologia da talassemia beta. Os resultados evidenciaram que os marcadores selecionados convergem para três domínios funcionais centrais: (i) regulação transcricional e epigenética do locus β -globina, (ii) manutenção da homeostase redox frente ao estresse oxidativo exacerbado, e (iii) processos eritroides fundamentais, incluindo diferenciação, sobrevivência celular e transporte de gases. Essa organização modular demonstra que a doença emerge de desregulação integrada envolvendo redes de fatores de transcrição, complexos remodeladores de cromatina, vias antioxidantes e genes estruturais das globinas, reforçando a interdependência entre controle gênico e funcionalidade eritroide.

Os achados indicam que os genes diferencialmente expressos constituem uma assinatura molecular altamente informativa, capaz de refletir mecanismos determinantes da gravidade clínica, ineficiência eritropoiética e variabilidade fenotípica observada entre indivíduos afetados. A identificação robusta de reguladores como *BCL11A*, *KLF1*, *GATA1*, *SOX6*, *DNMT3A*, *PRMT5*, *NRF2*, *SOD1* e *MAP3K5*, bem como de elementos *cis* e componentes epigenéticos associados ao silenciamento da globina γ , evidencia o papel articulado desses fatores na modulação da expressão globínica e na resposta adaptativa ao estresse fisiopatológico.

Dessa forma, os dados aqui integrados reforçam que a talassemia beta é sustentada por uma arquitetura regulatória complexa, cuja compreensão detalhada é essencial para o desenvolvimento racional de estratégias terapêuticas. Os marcadores caracterizados não apenas contribuem para elucidar as bases moleculares da doença, mas também configuram um arcabouço promissor para aplicações diagnósticas, estratificação prognóstica e direcionamento de terapias inovadoras.

REFERÊNCIAS

- ASHBURNER, M. *et al.* Gene ontology: tool for the unification of biology. **Nature Genetics**, v. 25, p. 25–29, 2000.
- BADER, G. D.; HOGUE, C. W. V. An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks. **BMC Bioinformatics**, v. 4, p. 2, 2003.
- BERMAN, H. M. *et al.* The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, p. 235–242, 2000.
- BORELLI, P. (org.). **Fundamentos de hematologia: teoria e prática**. São Paulo: Blücher, 2024.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. **Diagnóstico Laboratorial das Hemoglobinopatias** [recurso eletrônico]. Brasília: Ministério da Saúde, 2024. 124 p. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diagnostico_laboratorial_hemoglobinopatias.pdf. Acesso em: 14 out. 2025.
- CORDVIDA. **CordVida envia uma amostra de células-tronco que estava armazenada em nosso laboratório para tratar talassemia**. São Paulo, 13 mar. 2024. Disponível em: <https://www.cordvida.com.br/folheto/cordvida-envia-uma-amostra-de-celulas-tronco-para-tratar-talassemia/>. Acesso em: 14 dez. 2025.
- DOTTO, F. R. C. **Talassemias Alfa e Beta: revisão**. 2005. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Laboratório Clínico II) — Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Santa Maria, RS, Brasil, 2005.
- DUTRA, R. L. **Regulação da expressão dos genes da família da β -globina humana**. 2005. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Genética) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- EISENBERG, D.; LÜTHY, R.; BOWIE, J. U. VERIFY3D: assessment of protein models with three-dimensional profiles. **Methods in Enzymology**, v. 277, p. 396–404, 1997.
- HOOFT, R. W. W. *et al.* Errors in protein structures. **Nature**, v. 381, p. 272, 1996.
- HUANG, D. W.; SHERMAN, B. T.; LEMPICKI, R. A. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. **Nucleic Acids Research**, v. 37, p. 1–13, 2009.
- HUANG, D. W.; SHERMAN, B. T.; LEMPICKI, R. A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. **Nature Protocols**, v. 4, p. 44–57, 2009.
- KANEHISA, M.; SATO, Y.; MORISHIMA, K. BlastKOALA and GhostKOALA: KEGG tools for functional characterization of genome and metagenome sequences. **Journal of Molecular Biology**, v. 428, p. 726–731, 2017.
- LASKOWSKI, R. A. *et al.* AQUA and PROCHECK-NMR: programs for checking the quality of protein structures solved by NMR. **Journal of Biomolecular NMR**, v. 8, p. 477–486, 1996.
- LASKOWSKI, R. A. *et al.* PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 26, p. 283–291, 1993.
- LISOT, C. L. A. **Triagem de hemoglobinopatias em doadores de sangue em área de colonização italiana do Rio Grande do Sul, Brasil**. Porto Alegre, 2003.
- MARTI-RENO, M. A. *et al.* Comparative protein structure modeling of genes and genomes. **Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure**, v. 29, p. 291–325, 2000.
- NELSON, D. L.; COX, M. M.; HOSKINS, A. A. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. v. 1. 8. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2022. E-book. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9786558820703/>. Acesso em: 14 out. 2025.

PAWLINA, W. **Ross: Histologia – Texto e Atlas: correlações com biologia celular e molecular**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2025. E-book. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788527740906/>. Acesso em: 14 out. 2025.

SALI, A.; BLUNDELL, T. L. Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints. **Journal of Molecular Biology**, v. 234, p. 779–815, 1993.

SCHEPS, K. G.; VARELA, V. Regulación de expresión de genes de la familia de β -globina humana, útil en la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos para tratamiento de hemoglobinopatías. **Medicina (Buenos Aires)**, v. 76, n. 6, p. 383–389, dez. 2016.

SHAFIQUE, F. et al. Thalassemia, a human blood disorder. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, e246062, 2023.

SHANNON, P. et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. **Genome Research**, v. 13, p. 2498–2504, 2003.

SZKLARCZYK, D. et al. STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage. **Nucleic Acids Research**, v. 47, p. D607–D613, 2019.

THE GENE ONTOLOGY CONSORTIUM. The Gene Ontology resource: enriching a GOld mine. **Nucleic Acids Research**, v. 49, p. D325–D334, 2021.

THEIN, S. L. Molecular basis of β thalassemia and potential therapeutic targets. **Blood Cells, Molecules and Diseases**, v. 70, p. 54–65, 2018.

WEBB, B.; SALI, A. Comparative protein structure modeling using MODELLER. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 54, p. 5.6.1–5.6.37, 2016.

WINN, M. D. et al. Overview of the CCP4 suite and current developments. **Acta Crystallographica Section D**, v. 67, p. 235–242, 2011.

ZAKARIA, N. A. et al. Epigenetic insights and potential modifiers as therapeutic targets in β -thalassemia. **Biomolecules**, v. 11, n. 5, p. 755, 2021.