



**BAHIANA**  
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

EMILY DUARTE SANTANA SANTOS

**PAPEL DOS microRNAs E LONG NON-CODING RNAs NA HEMOFILIA A –  
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Salvador - BA

2022

EMILY DUARTE SANTANA SANTOS

**PAPEL DOS microRNAs E LONG NON-CODING RNAs NA HEMOFILIA A –  
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado à Escola Bahiana de  
Medicina e Saúde Pública como  
parte dos requisitos para obtenção do  
título de Bacharel em Biomedicina.  
Orientador(a): Prof. Dr. Adriano  
Costa de Alcântara

Salvador-BA

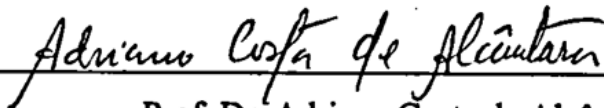
2022

EMILY DUARTE SANTANA SANTOS

**PAPEL DOS MICRORNAS E LONG NON-CODING RNAS NA HEMOFILIA A  
- UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

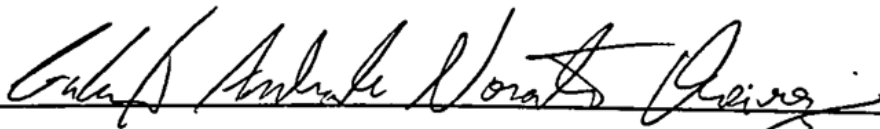
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado à obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina e aprovada em sua forma final pelo Curso de Biomedicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

Salvador – BA, 04 de junho de 2022.



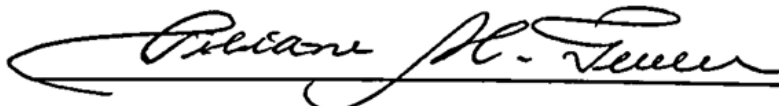
Prof. Dr. Adriano Costa de Alcântara

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública



Prof. Dr. Gabriel Andrade Nonato Queiroz

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública



Prof. Me. Viviane De Matos Ferreira

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por toda força e bênçãos que ele tem me proporcionado ao longo dessa jornada.

Aos meus pais, por tudo que eu sou, por todo apoio e suporte, por todas as lágrimas derramadas que eles enxugaram, pelas alegrias, à minha mãe Aline minha maior inspiração, que nunca duvidou de mim e da minha capacidade, ao meu pai José, que acreditou em mim e me deu todo o suporte necessário, ao meu namorado Caique, por toda calma e paciência em todos os momentos, com muito carinho sempre esteve comigo.

Aos meus amigos, Mateus, Guilherme e Renan, por toda ajuda, conselhos, pelos momentos alegres e críticos, por acreditarem em mim e no meu potencial, vocês serão lembrados eternamente com carinho por mim, são os meus presentes que essa jornada me proporcionou.

Ao meu orientador Drº Adriano Costa de Alcântara, por me acompanhar com muita paciência e comprometimento, sendo um guia excepcional. Obrigada pela confiança, disponibilidade e dedicação, foi um privilégio e uma honra ter o senhor como orientador.

A minha turma e mestres da graduação, por todo ensinamento, pelo acolhimento, por todas as alegrias e aflições, pela compreensão, desejo meus sinceros agradecimentos.

*“Quando você assume responsabilidade por suas escolhas, em todo beco sem saída existe uma passagem secreta.” (Caio Santos)*

## SUMÁRIO

1. Artigo Científico .....	7
INTRODUÇÃO.....	10
METODOLOGIA.....	12
RESULTADOS .....	15
DISCUSSÃO.....	21
CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS .....	24
2. Proposta de Submissão.....	26

## 1. Artigo Científico

### **PAPEL DOS MICRORNAS E LONG NON-CODING RNAS NA HEMOFILIA A – UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Emily Duarte S. Santos<sup>1</sup>, Adriano Costa de Alcântara<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, BA, Brasil

ORCID Emily: 0000-0002-7445-6428

ORCID Adriano: 0000-0003-0115-4987

Autor para correspondência: Emily Duarte Santana Santos

Endereço: Rua Luis Anselmo, número 1044

Bairro: Luiz Anselmo

Salvador – BA

Cep: 40260-485

E-mail: emily.duartess@gmail.com

## RESUMO

A hemofilia A é uma doença hereditária ligada ao cromossomo X que leva a deficiência no fator FVIII da coagulação sanguínea, gerando um distúrbio hemorrágico. O diagnóstico da doença é realizado a partir da análise de tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), junto com a dosagem plasmática da atividade do FVIII. O tratamento é baseado na administração regular de concentrados plasmáticos ou recombinantes do FVIII. Os RNAs não codificantes (ncRNAs) são moléculas de RNA que apesar de não codificarem proteínas, apresentam um papel importante na regulação da expressão gênica. Estudos recentes demonstram a importância e o papel desses ncRNAs em diversas patologias, incluindo a hemofilia A. Desta forma, esse trabalho tem como objetivo revisar sistematicamente os principais mecanismos de regulação dos ncRNAs na hemofilia A. Utilizou-se a base de dados Pubmed/Medline para identificar associando os ncRNAs com a hemofilia A entre pacientes saudáveis (controles) e pacientes com hemofilia A, onde foram utilizados 9 artigos. Foi possível identificar dois miRNAs (miR-1246 e miR-4521) que apresentaram características de biomarcadores para hemofilia A. Os lncRNAs (NONHSAT139215.2 e NONHSAT13219.2) apresentaram interação positiva com o gene FVIII enquanto os SNPs (rs34552198, rs28857481, rs1800292, rs78327897, rs1050705 e rs6643622) apresentaram interação negativa, afetando a expressão dessas moléculas nos pacientes. Atualmente, existe uma terapia medicamentosa baseada em RNAi (RNA de interferência) – o fitosiran - com resultados significativos em pacientes com hemofilia A. Apesar dos resultados indicarem que estas moléculas poderão atuar como medicamentos/terapias, mais estudos serão necessários para a confirmação de sua eficiência e eficácia.

**Palavras-chave:** RNAs não codificantes, Hemofilia A, ncRNA.



## ABSTRACT

Hemophilia A is an X-linked hereditary disease that leads to a deficiency in blood clotting factor FVIII, generating a bleeding disorder. The diagnosis of the disease is based on the analysis of prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT), together with the plasma measurement of FVIII activity. Treatment is based on the regular administration of FVIII plasma or recombinant concentrates. Non-coding RNAs (ncRNAs) are RNA molecules that, despite not encoding proteins, play an important role in the regulation of gene expression. Recent studies demonstrate the importance and role of these ncRNAs in several pathologies, including hemophilia A. Thus, this work aims to systematically review the main regulatory mechanisms of ncRNAs in hemophilia A. The Pubmed/Medline database was used to identify associating ncRNAs with hemophilia A between healthy patients (controls) and patients with hemophilia A, where 9 articles were used. It was possible to identify two miRNAs (miR-1246 and miR-4521) that showed characteristics of biomarkers for hemophilia A. The lncRNAs (NONHSAT139215.2 and NONHSAT13219.2) showed a positive interaction with the FVIII gene, while the SNPs (rs34552198, rs28857481, rs1800292, rs78327897, rs1050705 and rs6643622) showed a negative interaction, affecting the expression of these molecules in patients. Currently, there is a drug therapy based on RNAi (RNA of interference) - fitsurian - with significant results in patients with hemophilia A. Although the results indicate that these molecules may act as drugs/therapies, further studies are needed to confirm their effect. efficiency and efficacy.

**Keywords:** Non-coding RNAs, Hemophilia A, ncRNA.

## INTRODUÇÃO

Existem mais de mil mutações genéticas diferentes, relatadas na literatura, no gene que codifica o fator VIII de coagulação plasmática funcional (FVIII). A deficiência nesse fator FVIII causa um distúrbio hemorrágico, conhecido como hemofilia A que representa 80% dos casos de hemofilia, com uma taxa de 1 para cada 5 a 10.000 pessoas nascidas do sexo masculino. Outros casos estarão relacionados a outra hemofilia, denominada de B (1, 2).

Os pacientes que apresentam sangramentos espontâneos de tecidos moles, intra-articular e de musculo esquelético, visitam uma unidade de saúde, e lá, o médico, após a anamnese, requisita a realização de exames para investigar e avaliar os fatores de coagulação (3). Inicialmente a triagem é realizada a partir da análise de tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), junto com a dosagem da atividade coagulante do FVIII e, assim, é possível fazer o diagnóstico e monitoramento da hemofilia A (2, 4).

Pacientes com hemofilia A precisam ter cuidado com acidentes, esportes de alto impacto e aumento da atividade física, pois qualquer trauma pode acarretar hemorragias graves. O tratamento é baseado na administração regular e continuada de concentrados plasmáticos ou recombinantes enriquecidos com o FVIII, o qual possui uma meia vida curta na circulação, exigindo a sua administração frequente, tornando o tratamento caro e desconfortável (3).

Os RNAs não codificantes (ncRNA) são moléculas de RNA, que não codificam uma proteína, porém são funcionais e auxiliam no controle da expressão gênica. Ao nível pós-transcricional onde, em conjunto com diversos fatores moleculares, ativam ou inibem a expressão de um gene, controlando processos fisiológicos celulares, como a diferenciação e a proliferação celular (5). Isto os torna interessantes para a manipulação e geração de drogas que controlem a expressão gênica (5, 6).

A partir dos avanços nas técnicas de biologia molecular, tornou-se possível identificar, em alguns casos, seus mecanismos de ação e desenvolver um controle da atividade dos RNAs não codificantes, importantes para o entendimento de doenças genéticas e para o desenvolvimento de biofármacos com baixa toxicidade e alta especificidade (6). Muitos bancos de dados específicos para o catálogo dos ncRNAs descobertos e sequenciados, já estão disponíveis online com informações uteis para o auxílio no desenvolvimento de pesquisas (7).

Cerca de 60.000 ncRNAs já foram relatados na literatura e atualmente são divididos em grupos, onde temos, microRNAs (miRNAs), RNAs longo não codificantes (lncRNA), RNA de interferência pequeno (siRNA), pequenos RNAs nucleolares (snoRNA), entre outros (7). A função da grande maioria dos ncRNAs ainda é uma incógnita e estudos indicam a existência de milhares de ncRNAs (8).

O objetivo desse estudo foi revisar os principais mecanismos de regulação dos RNAs não codificantes na hemofilia A. Além disso, conseguimos identificar possíveis biomarcadores de ncRNAs estudados com foco no diagnóstico da hemofilia A e uma terapia utilizando um siRNA para tratamento da hemofilia A.

Estudos sobre os RNAs não codificantes para diagnóstico, monitoramento e tratamento de diversas patologias estão cada vez mais comuns na atualidade. A sua importância na regulação dos genes, no controle transcricional e pós-transcricional da expressão de genes alvo estão se tornando cada vez mais claras (9).

O custo da produção da terapia gênica e o manejo que o mesmo permite para o tratamento da doença é menor e mais simples, proporcionando uma extensão na proteção dos pacientes, evitando sangramentos, diminuindo a frequência e a necessidade de aplicações de medicamentos, quando comparado aos tratamentos clássicos atuais. Desta forma, faz-se importante aprofundar e desenvolver estudos sobre os mecanismos fisiopatológicos que estes RNAs regulatórios possuem na hemofilia A (3).

## **METODOLOGIA**

O presente estudo é uma revisão sistemática, com base na análise dos artigos de estudos experimentais sobre o papel dos ncRNAs na hemofilia A. Este estudo seguiu as recomendações da estratégia PICOS (P - População/Paciente/Problema; I – Intervenção; C – comparação; O – “Outcome” /desfecho ou resultado; S – “Study design” /desenho de estudo) e do protocolo de Itens de Relatos Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises (“Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses” – PRISMA), visando responder a pergunta investigativa “Quais os mecanismos de regulação dos RNAs não codificantes associados com a hemofilia A?”.

### **ESTRATÉGIA DE BUSCA**

A pesquisa bibliográfica foi realizada por dois autores em um banco de dados de base eletrônica, “Pubmed”, utilizando as palavras chaves “Hemophilia A” e “(non-coding RNA OR ncRNA)”, entre o período de 07 de setembro de 2021 a 20 de março de 2022. Os filtros utilizados para delinear o estudo foram “in the last 10 years”. Realizou-se uma busca adicional na plataforma SCIELO, mas não houve dados disponíveis no período analisado sobre o assunto.

### **CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

Foram utilizados nesta revisão, os artigos que atenderam aos seguintes critérios: estudos utilizando RNAs não codificantes associados à hemofilia A; Ensaios clínicos; Artigos publicados nos últimos 10 anos.

### **CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

Foram considerados critérios de exclusão artigos que tinham como método identificação e sequenciamento de RNA; Artigos de terapias não associada ao ncRNA; Artigos experimentais para criação de softwares; Artigos com outra comorbidade associada a hemofilia A; Artigos de revisão.

### **EXTRAÇÃO DE DADOS**

Os artigos completos obtidos com a estratégia de busca que preencheram os critérios de inclusão foram selecionados. Os dados foram extraídos e organizados em uma tabela expositiva de dados, com os seguintes campos: autores; ano; tipo de pesquisa; resultados principais; conclusão.

**PICOS**

TABELA 1: Parâmetros da estratégia PICOS para formulação da pergunta investigativa.

<b>Acrônimo</b>	<b>Componente</b>	<b>Descrição</b>
P	<i>Population</i> – participantes ou população	Pacientes com hemofilia A
I	<i>Intervention</i> – intervenção ou exposição	RNAs não codificantes
C	<i>Comparison</i> – Comparação ou controle	Pacientes saudáveis (sem hemofilia A)
O	<i>Outcome</i> – resultado ou desfecho	Explicação do mecanismo de regulação da hemofilia
S	<i>Study</i> – tipos de estudos	Experimentais, estudos clínicos

## PRISMA

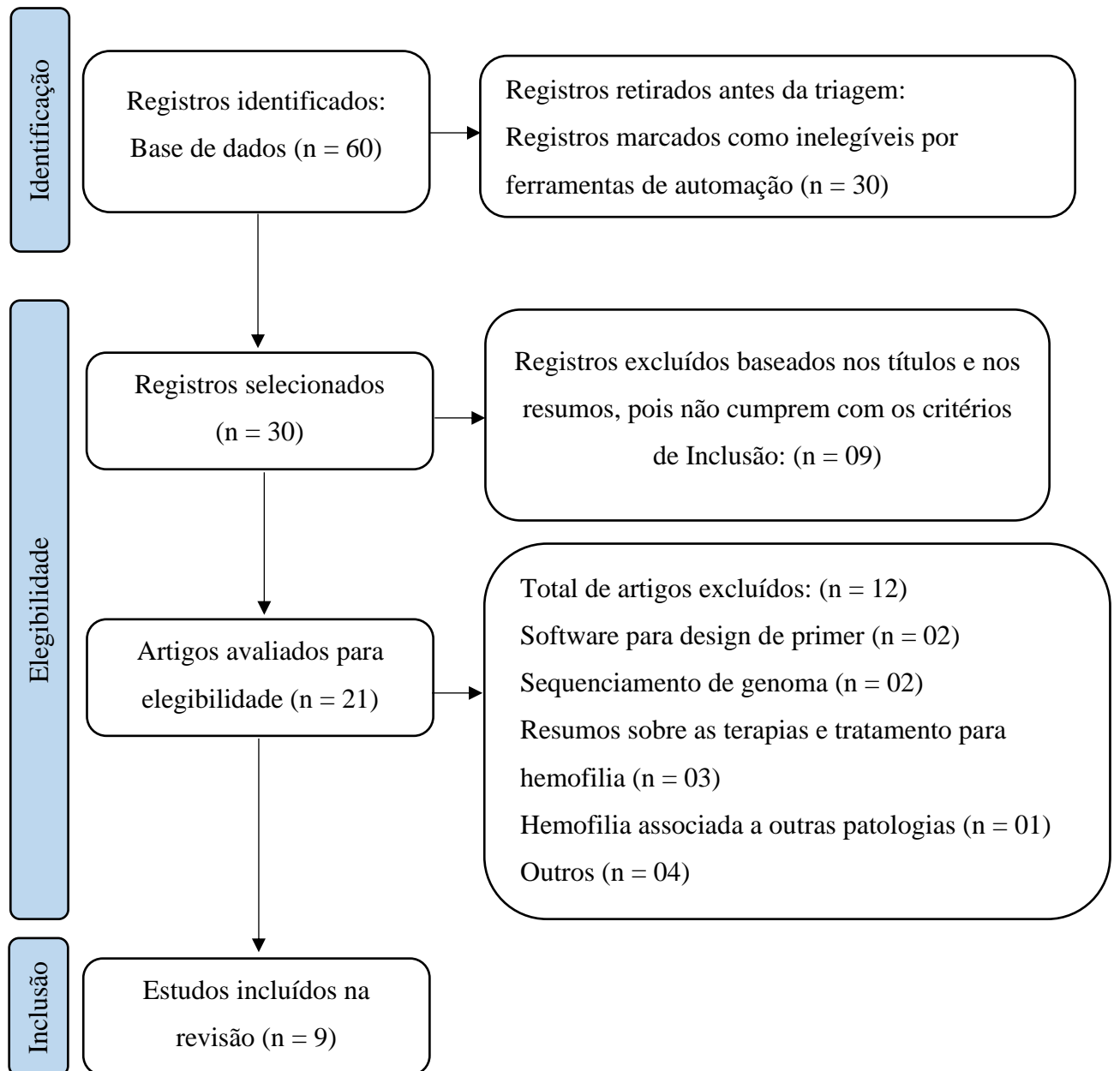


Figura 1. Fluxograma com a estratégia PRISMA para inclusão/exclusão dos artigos da presente revisão sistemática.

## RESULTADOS

A figura 1 ilustra o processo aplicado com o protocolo PRISMA na definição dos artigos elegíveis para esta revisão sistemática. Um total de 60 possíveis artigos relevantes foram encontrados no Pubmed e nenhum artigo foi encontrado no website da SciELO - <https://scielo.org/pt/>. Dos artigos recuperados, 30 foram excluídos por ferramentas de automação do site do Pubmed – <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov> (“in the last 10 years” e “humans”).

Avaliando os demais artigos, foram excluídos mais 09 artigos com base na revisão dos títulos e resumos. Os artigos remanescentes foram lidos em sua totalidade, sendo que 09 deles cumpriram todos os critérios de elegibilidade do estudo. Os resultados e conclusões principais de cada artigo elegível está demonstrado na tabela 2.

A maioria dos estudos avaliados incluem amostras de pacientes do sexo masculino, com hemofilia A, utilizando ou não inibidores para eventos hemorrágicos e os comparam com doadores saudáveis. Apenas 1 artigo foi encontrado utilizando pacientes para análise de terapia genica e um outro foi incluído, mesmo utilizando amostras de uma linhagem específica de camundongo (*Murinae* - C3H/HeJ), devido às semelhanças do gene F8 murino com o gene F8 humano. Estes genes codificam cadeias polipeptídicas de aminoácidos (proteínas) com estrutura de domínio semelhantes.

Um total de dez SNPs, dois lncRNAs, um siRNA e sete miRNAs foram relatados e utilizados, diferencialmente expressos entre casos e controles, sendo 2 miRNAs (miR-1246 e miR-4521) utilizados em estudos para identificação de possíveis biomarcadores (9). Neste estudo, amostras de sangue humano saudável, onde concentrações sintéticas desse miRNAs foram adicionadas e testadas para diagnóstico clínico utilizando um biossensor, observando-se uma resposta eletroquímica do miR-1246 e miR-4521 acima de 100%, indicando um potencial significativo para a análise de miRNAs no diagnóstico clínico. A reprodutibilidade foi avaliada a partir das medições voltamétricas que produziram valores desviados (desvio padrão relativo) de apenas 5,1% e 4,4% e, ao se avaliar a repetibilidade, observou-se desvios na ordem de 6,2% e 5,2%. Valores estes que indicam boa reprodutibilidade para o teste. Em relação a especificidade, a corrente gerada pelos alvos complementares ligados aos miRNAs foi cerca de 10,8 vezes do que ligados a pareamentos com uma base diferente, indicando também uma alta especificidade.

No estudo de Sarachana et al (2015), os miR-1246 e miR-4521 foram avaliados os seus níveis de expressão e correlacionados com dados de microarray de ncRNA, confirmando a regulação positiva desses ncRNAs em amostras de pacientes com

hemofilia A. Além disto, foram superexpressos o miR-1246 em células linfoblastóide dos doadores saudáveis, denominadas de Nor, onde o nível de FVIII nas células foi significativamente reduzido em comparação com as células transfectadas com precursor de miRNA como um controle negativo.

O estudo realizado com três miRNAs (miR-208, miR-351 e miR-125a) selecionados para análise em duas linhagens de células humanas, HEK293 e HeLa, co-transfectadas com o plasmídeo repórter de luciferase com plasmídeos expressando esses miRNAs conjugados com a região 3'UTR do gene FVIII murino, apresentaram resultados de atividade diminuída em comparação com o controle, menor que 60%, expressando taxas mais altas de diminuição o miR-208 e taxas de alteração mais baixas o miR-125a (20%). Os mesmos resultados foram observados quando superexpressado esses miRNAs na redução dos níveis de proteína FVIII murino (10).

Dois miRNAs (miR-30c) e (miR-374b) superexpressados foram transfectados em células HEK293T ou HeLa com um plasmídeo repórter de luciferase contendo o 3' UTR de F8 humano e plasmídeos de expressão de miRNA apresentou uma redução de 10% a 28% na atividade da luciferase (11). Os testes realizados, em células com o inibidor de miR-30c demonstrou um aumento dos níveis de mRNA de F8 ( $p < 0,05$ ).

No estudo de Naderi et al (2019), dos 2 lncRNAs (NONHSAT139215.2 e NONHSAT13219.2) quantificados relativamente nas amostras de sangue de pacientes com hemofilia A e em amostras de indivíduos saudáveis, detectou-se médias dos níveis de transcrição dos dois lncRNAs menor nas amostras dos pacientes ( $p < 0,05$ ), indicando uma possível relação de inibição destes lncRNAs com a atividade do gene FVIII.

Quatro SNPs (rs36101366 A>G, rs34683807 C >T, rs180360 C>A e rs3024496 T>C) foram analisados e as suas frequências em indivíduos saudáveis foram comparadas aos de pacientes com hemofilia A, contudo, as suas distribuições não mostraram diferenças significativas (13). No estudo dos SNPs (14) foi realizada a análise da expressão de mRNA do gene FVIII em uma região apresentando mutações de inclusão do íntron 18 (inserção de 105 pb e 126 pb) e, neste estudo, observou-se uma redução significativa na quantidade de mRNA do gene FVIII em pacientes, levando os autores a indicar a presença de um "splicing" alternativo na região. Ainda, seis SNPs (rs34552198, rs28857481, rs1800292, rs78327897, rs1050705 e rs6643622) descritos foram avaliados para verificar os seus efeitos na redução da expressão do gene FVIII. Nenhum deles apresentou efeito com significância estatística. Os autores fizeram uma análise de associação do efeito dos SNPs na expressão do mRNA do gene FVIII, do antígeno do



fator VIII (FVIII:Ag) e do fator VIII coagulante (FVIII:C), detectando uma associação significativa entre a expressão de mRNA de FVIII com o rs28857481 ( $p = 0,0326$ ), com o rs6643622 ( $p = 0,0071$ ) e com o rs34552198 associado com FVIII:C ( $p = 0,0490$ ) e nenhuma associação significativa com FVIII:Ag.

Um estudo com terapia medicamentosa experimental estudado utilizou-se do medicamento Fitsurian, também chamado de ALN-AT3SC, que é um siRNA sintético que reduz a produção da antitrombina nos hepatócitos. Este estudo demonstrou a redução consistente de antitrombina e, conseqüentemente, a sua atividade em pacientes com hemofilia A, tratados ou não com inibidores, apresentando um aumento da geração de trombina independente da dose (50mg e 80mg) administrada. Além disto, uma melhora (redução) nos índices de sangramento anual e na qualidade de vida (aumento) ao avaliar o escore de Índice de Qualidade de Vida Específico para Hemofilia (Haem-A-QoL) (15).

A inclusão do estudo de análise gênica do locus genômico F8, avaliou alterações de nucleotídeos em todo o DNA do gene F8 que não haviam sido relatadas previamente ao banco de dados de SNPs. Estas alterações geraram um novo sítio de splicing alternativo, gerando uma deleção de 159bp na região 3' – UTR do gene FVIII. Estas regiões foram clonadas em um vetor que, ao ser usado em experimentos de expressão em células, induziu uma redução da expressão do gene repórter de luciferase associado ao vetor e dependente de um promotor do gene F8 (16).

TABELA 2:

AUTORES/ANO	TIPO DE ESTUDO	RESULTADOS	CONCLUSÃO
jth.15270 / K John Pasi; Toshko Lissitchkov; Vasily Mamonov e cia / 2021	Análise medicamentosa do fitusiran comparativa de doadores saudáveis vs pacientes com hemofilia (grupos de dose de 50 mg e 80 mg + inibidores em humanos)	Atividade AT (antitrombina) média = entre os dois grupos: 18,0% - dose de 50 mg e 12,6 % - dose de 80 mg, ↓ de 82,0% e 87,4%. O nível residual mínimo de AT pós-dose = 9,8%, grupo de 80 mg. ↓ AT ≥75% da linha de base = ↑ de pico de trombina mediana de 68,05 nM. 65% dos participantes sem eventos hemorrágicos durante o tratamento, sem taxa de sangramento anual no período de observação.	Redução consistente na atividade AT com o tratamento com fitusiran, aumentando a geração de trombina em ambos os grupos. O escore de Haem-A-QoL e as taxas de sangramento anual apresentaram melhorias clinicamente significativas com o tratamento.
ijms21165621 / Katarzyna I. Jankowska; Maitreyi Chattopadhyay; Zuben E. Sauna; Chintamani D. Atreya / 2020	Avaliar o papel dos miRNAs na deficiência de FVIII e HA em espécie de roedor e em células controle	A superexpressão de miR-208a, miR-351 e miR-125a (p = 0,002) ↓ os níveis de mRNA de muF8 = ↓ 25-70%, após a transfecção com o plasmídeo.	A expressão de miR-208a, miR-351 ou miR-125a em células de camundongo modula a expressão da proteína FVIII murina.
16078454.2018.1560934 / Niloofar Naderi; Ali Namvar; Nooshin Amani; Nikoo Nasoohi; Azam Bolhassani / 2019	Análise in vitro da expressão dos lncRNAs comparando pacientes com hemofilia A e doadores saudáveis	A média dos níveis de transcrição de dois lncRNAs (NONHSAT139215.2 e NONHSAT13219.2) foi reduzida nas amostras de pacientes com hemofilia A (p < 0,05) comparado com o controle.	A expressão dos lncRNAs foi significativamente baixa em paciente com hemofilia A, o que pode estar relacionados à atividade do FVIII.
hae.12923 / B Pezeshkpoor; A-C Berkemeier; K J Czogalla; J Oldenburg; O El-Maarri / 2016	Análise da expressão gênica in vitro do DNA de pacientes com hemofilia A e doadores saudáveis	Deleção da deleção de 159 bp da região 3' UTR do gene FVIII - ↓ expressão do gene repórter de luciferase (~40%, P < 0,0001) vs plasmídeo selvagem.	Esses resultados confirmam a patogenicidade da variante mostrando que a deleção de 159 bp de F8 3' UTR pode ter um efeito nos níveis de expressão de mRNA.

j.1365-2516.2012. 02882.x / V Bafunno, R Santacroce, M Chetta, F Peyvandi, F Sessa, E Chinni, V Longo, M Margaglione / 2012	Análise <i>in silico</i> da relação dos SNP com a hemofilia A associada a pacientes que utilizam inibidores, pacientes que não utilizam inibidores e pacientes saudáveis	Três SNPs na região 3'UTR do gene F8 (rs36101366 A>G, rs34683807 C >T, rs180360 C>A) e um SNP na região 3'UTR do gene IL-10 (rs3024496 T>C) apresentaram frequências em 65 indivíduos saudáveis, 97 (F8) e 78 (IL-10) pacientes sem inibidores e 111 (F8) e 66 (IL-10) pacientes com inibidores.	A análise da frequência de genótipos e alelos não mostrou diferença significativa entre os diferentes subgrupos.
j.aca.2019.09.037 / H Rezaei, M Motovali-Bashi, S Radfar / 2019	Detecção de MicroRNA para biomarcador da hemofilia A em Amostras de Soros humanos de pacientes com hemofilia e pacientes saudáveis	Resposta eletroquímica do biossensor para os miR-1246 e miR-4521 acima de 100%, a reprodutibilidade = 5,1% e 4,4%, a repetibilidade = 6,2% e 5,2% e a especificidade foi 10,8 vezes maior do que nos controles.	Um potencial significativo para a análise dos miRNAs miR-1246 e miR-4521 para o diagnóstico clínico.
trf.15605 / Katarzyna I Jankowska, Joseph McGill, Behnaz Pezeshkpoor, Johannes Oldenburg, Chintamani D Atreya, Zuben E Sauna / 2020	Identificar o papel dos microRNAs na regulação do F8 em células <i>in vitro</i> , utilizando amostras de pacientes com hemofilia A e doadores saudáveis	miR-30c-5p (miR-30c) e miR-374b-5p (miR-374b) = ↓↓ de 10% a 28% na atividade da luciferase quando ↑↑ miR-30c e miR-374b nas células. A transfecção de células com o inibidor de miR-30c = ↑↑ os níveis de mRNA de FVIII (p < 0,05) e ↓↓ os níveis de miR-30c vs o controle negativo (p < 0,01).	Os resultados confirmam a regulação negativa de F8 mediada por miRNA na região 3' UTR pois a expressão e a tradução de mRNA de F8 foi regulada pelos miR-30c e miR-374b.

<p>journal.pone.0132433 / Tewarit Sarachana, Neetu Dahiya, Vijaya L Simhadri, Gouri Shankar Pandey, Surbhi Saini, Christine Guelcher, Michael F Guerrero, Chava Kimchi-Sarfaty, Zuben E Sauna, Chintamani D Atreya / 2015</p>	<p>Identificação de ncRNA que regulam o F8 em amostras de pacientes com hemofilia A e doadores saudáveis</p>	<p>os ncRNAs selecionados: hsa-miR-1246, hsa-miR-4521 e HBII-13, expressos diferencialmente (<math>p &lt; 0,01</math>).  <math>\uparrow</math> da expressão hsa-miR-1246 de células linfoblastóides transfectando as células com hsa-miR-1246 miRNA Precursor ou um Controle negativo = regulação positiva significativa.          hsa-mir-1246 é regulado positivamente em amostras de pacientes com HA.          o nível médio de hsa-miR-1246 em pacientes com HA sem inibidores é 10 vezes maior do que nos pacientes com inibidores.</p>	<p>Os resultados demonstraram que o hsa-miR-1246 atua sobre o mRNA do gene FVIII regulando a sua expressão.</p>
<p>jth.12339 / B Pezeshkpoor, N Zimmer, N Marquardt, I Nanda, T Haaf, U Budde, J Oldenburg, O El-Maarri / 2013</p>	<p>Análise <i>in vitro</i> dos micro RNAs, para identificação de variações intrônicas em amostras de pacientes com hemofilia A e doadores saudáveis</p>	<p>a inclusão de sequências intrônicas do íntron 18 (inserção de 105 pb e 126 pb) revelou a presença de duas variações intrônicas únicas identificadas por NGS (c.5998+530C&gt;T e c.5998+941G&gt;A, respectivamente).          SNPs (rs34552198, c.2114-7226_2114-7225insTA) foram associados com o F8 (<math>P = 0,0490</math>).          Associações entre a expressão do mRNA de F8 e rs28857481 e rs6643622 (<math>P = 0,0326</math> e <math>P = 0,0071</math>).</p>	<p>Os resultados de sequenciamento mostraram que a transição ativa para outro sítio de splice +10 pb a jusante da mutação. Variações profundas na sequência intrônica afetam o processo de splicing.</p>

## DISCUSSÃO

Os ncRNAs começaram a ter mais notoriedade nos anos 2000, sendo um assunto relativamente novo e com um foco maior em neoplasias e, por conta disto, observam-se poucos artigos e estudos voltados para as demais doenças, entre elas, as coagulopatias. Atualmente, os estudos sobre as funções e os mecanismos de ação dos ncRNAs, bem como de suas mutações e polimorfismos, são muito importantes para o entendimento da patogênese das coagulopatias e, especialmente, da hemofilia A.

O miR-1246 e o miR-4521, utilizados em 2 dos estudos aqui avaliados, apresentaram resultados que indicam sua associação com a regulação da expressão do gene F8, demonstrando um potencial significativo para sua utilização no diagnóstico clínico da hemofilia A, com confiabilidade baseada na avaliação de especificidade, reprodutibilidade e repetibilidade, observando-se alta especificidade na discriminação de miRNAs semelhantes (1, 9).

Os outros 5 miRNAs (miR-208a, miR-351, miR-125, miR-30c e miR-374b) foram estudados em artigos diferentes, utilizando as mesmas abordagens, o que levou a conclusões semelhantes, demonstrando que regulam a expressão do mRNA e os níveis séricos da proteína FVIII (10, 11).

Os lncRNAs NONHSAT139215.2 e NONHSAT13219.2 possuem uma alta interação com o FVIII, indicando uma possível relação com a atividade do gene (12). Além dele, os SNPs rs34552198, rs28857481, rs1800292, rs78327897, rs1050705 e rs6643622 apresentaram interação com os mRNA do FVIII, mostrando uma associação direta com o gene FVIII (14).

Em linhas gerais, os SNPs (rs36101366 A>G, rs34683807 C >T, rs180360 C>A e rs3024496 T>C) estudados (13) não obtiveram resultados significativos e relevantes, quando comparados com indivíduos saudáveis, indicando ausência de associação com a hemofilia A.

O medicamento experimental Fitsurian, utilizado no estudo (15), apresentou resultados relevantes, considerando que não houve interrupções do tratamento durante o estudo. Entre os resultados, podemos citar reduções de eventos hemorrágicos e melhoras na qualidade de vida. É interessante que se façam mais experimentos com a medicação, para verificar se, a longo prazo, os pacientes permanecem com a qualidade de vida e se o tempo de ação do medicamento se mantém, visando avaliar se haverá necessidade de aumento do número de aplicações, relacionadas ao tempo de uso.

Pezeshkpoor et al (2016) (16) fizeram o sequenciamento e concluíram que a deleção de 159 bp da região 3' UTR do gene FVIII pode ter um efeito nos níveis de expressão deste mRNA.

## CONCLUSÃO

Há uma diversidade considerável nas previsões computacionais de SNPs, ncRNAs e mutações genéticas que podem estar associadas a hemofilia A e ao gene FVIII. Atualmente, poucos estudos têm relacionado as doenças não neoplásicas com a terapia gênica, apesar dos resultados de vários artigos serem promissores em outras áreas.

Nesta revisão sistemática, mostramos que os miRNAs estudados regulam a expressão genica do FVIII e que os miR-1246 e miR-4521 apresentam características de biomarcadores para hemofilia A. Os lncRNAs (NONHSAT139215.2 e NONHSAT13219.2) e os SNPs (rs34552198, rs28857481, rs1800292, rs78327897, rs1050705 e rs6643622) apresentam interação com o gene FVIII, afetando a sua expressão. Os SNPs (rs36101366, rs34683807, rs180360 e rs3024496) apresentaram uma variação genética, porém não demonstraram associação ou efeito diretamente detectável na hemofilia A.

Embora os resultados na utilização do medicamento fitzurian tenham sido interessantes, mais estudos são necessários, para compreender melhor, a longo prazo, os efeitos da medicação. A presente revisão indica a necessidade de mais estudos que permitam ampliar a compreensão sobre os efeitos dos ncRNAs na expressão do FVIII e de seu papel na hemofilia A.

## REFERÊNCIAS

1. Sarachana T, Dahiya N, Simhadri VL, Pandey GS, Saini S, Guelcher C, et al. Small ncRNA Expression-Profiling of Blood from Hemophilia A Patients Identifies miR-1246 as a Potential Regulator of Factor 8 Gene. *PLoS One*. 2015;10(7):e0132433.
2. Hemoderivados BMdSSdASDdAEeTC-GdSe. Manual de hemofilia. 2 ed ed2015 2015.
3. Nathwani AC. Gene therapy for hemophilia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2019;2019(1):1-8.
4. Lenting PJ. Laboratory monitoring of hemophilia A treatments: new challenges. *Blood Adv*. 2020;4(9):2111-8.
5. Panni S, Lovering RC, Porras P, Orchard S. Non-coding RNA regulatory networks. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*. 2020;1863(6):194417.
6. Matsui M, Corey DR. Non-coding RNAs as drug targets. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16(3):167-79.
7. Ning S, Li X. Non-coding RNA Resources. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2018;v 1094.
8. Wright MW, Bruford EA. Naming 'junk': human non-protein coding RNA (ncRNA) gene nomenclature. *Hum Genomics*. 2011;5(2):90-8.
9. Rezaei H, Motovali-Bashi M, Radfar S. An enzyme-free electrochemical biosensor for simultaneous detection of two hemophilia A biomarkers: Combining target recycling with quantum dots-encapsulated metal-organic frameworks for signal amplification. *Anal Chim Acta*. 2019;1092:66-74.
10. Jankowska KI, Chattopadhyay M, Sauna ZE, Atreya CD. A Foundational Study for Normal F8-Containing Mouse Models for the miRNA Regulation of Hemophilia A: Identification and Analysis of Mouse miRNAs that Downregulate the Murine F8 Gene. *Int J Mol Sci*. 2020;21(16).
11. Jankowska KI, McGill J, Pezeshkpoor B, Oldenburg J, Atreya CD, Sauna ZE. Clinical manifestation of hemophilia A in the absence of mutations in the F8 gene that encodes FVIII: role of microRNAs. *Transfusion*. 2020;60(2):401-13.
12. Naderi N, Namvar A, Amani N, Nasoohi N, Bolhassani A. Analysis of long non-coding RNA expression in hemophilia A patients. *Hematology*. 2019;24(1):255-62.
13. Bafunno V, Santacroce R, Chetta M, Peyvandi F, Sessa F, Chinni E, et al. Polymorphic miRNA-mediated gene contribution to inhibitor development in haemophilia A. *Haemophilia*. 2012;18(6):1003-7.
14. Pezeshkpoor B, Zimmer N, Marquardt N, Nanda I, Haaf T, Budde U, et al. Deep intronic 'mutations' cause hemophilia A: application of next generation sequencing in



patients without detectable mutation in F8 cDNA. *J Thromb Haemost.* 2013;11(9):1679-87.

15. Pasi KJ, Lissitchkov T, Mamonov V, Mant T, Timofeeva M, Bagot C, et al. Targeting of antithrombin in hemophilia A or B with investigational siRNA therapeutic fitusiran-Results of the phase 1 inhibitor cohort. *J Thromb Haemost.* 2021;19(6):1436-46.

16. Pezeshkpoor B, Berkemeier AC, Czogalla KJ, Oldenburg J, El-Maarri O. Evidence of pathogenicity of a mutation in 3' untranslated region causing mild haemophilia A. *Haemophilia.* 2016;22(4):598-603.

## 2. Proposta de Submissão

Será submetido a revista: ABRASCO – Associação Brasileira de Saúde Coletiva

Regras de submissão:

Artigos de Revisão: Devem ser textos baseados exclusivamente em fontes secundárias, submetidas a métodos de análises já teoricamente consagrados, temáticos ou de livre demanda, podendo alcançar até o máximo de 45.000 caracteres com espaço.

Apresentação de manuscritos

1. Os originais podem ser escritos em português, espanhol, francês e inglês. Os textos em português e espanhol devem ter título, resumo e palavras-chave na língua original e em inglês. Os textos em francês e inglês devem ter título, resumo e palavras-chave na língua original e em português. Não serão aceitas notas de pé-de-página ou no final dos artigos.
2. Os textos têm de ser digitados em espaço duplo, na fonte Times New Roman, no corpo 12, margens de 2,5 cm, formato Word (de preferência na extensão .doc) e encaminhados apenas pelo endereço eletrônico (<http://mc04.manuscriptcentral.com/csc-scielo>) segundo as orientações do site.
3. Os artigos publicados serão de propriedade da revista C&SC, ficando proibida a reprodução total ou parcial em qualquer meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem a prévia autorização dos editores-chefes da Revista. A publicação secundária deve indicar a fonte da publicação original.
4. Os artigos submetidos à C&SC não podem ser propostos simultaneamente para outros periódicos.
5. As questões éticas referentes às publicações de pesquisa com seres humanos são de inteira responsabilidade dos autores e devem estar em conformidade com os princípios contidos na Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial (1964, reformulada em 1975, 1983, 1989, 1989, 1996 e 2000).
6. Os artigos devem ser encaminhados com as autorizações para reproduzir material publicado anteriormente, para usar ilustrações que possam identificar pessoas e para transferir direitos de autor e outros documentos.
7. Os conceitos e opiniões expressos nos artigos, bem como a exatidão e a procedência das citações são de exclusiva responsabilidade dos autores.
8. Os textos são em geral (mas não necessariamente) divididos em seções com os títulos Introdução, Métodos, Resultados e Discussão, às vezes, sendo necessária a inclusão de

subtítulos em algumas seções. Os títulos e subtítulos das seções não devem estar organizados com numeração progressiva, mas com recursos gráficos (caixa alta, recuo na margem etc.).

9. O título deve ter 120 caracteres com espaço e o resumo/abstract, com no máximo 1.400 caracteres com espaço (incluindo a palavra resumo até a última palavra-chave), deve explicitar o objeto, os objetivos, a metodologia, a abordagem teórica e os resultados do estudo ou investigação. Logo abaixo do resumo os autores devem indicar até no máximo, cinco (5) palavras-chave. palavras-chave/keywords. Chamamos a atenção para a importância da clareza e objetividade na redação do resumo, que certamente contribuirá no interesse do leitor pelo artigo, e das palavras-chave, que auxiliarão a indexação múltipla do artigo. As palavras-chave na língua original e em inglês devem constar obrigatoriamente no DeCS/MeSH. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/ehttp://decs.bvs.br/>).

10. Passa a ser obrigatória a inclusão do ID ORCID no momento da submissão do artigo. Para criar um ID ORCID acesse: <http://orcid.org/content/initiative10>. Na submissão dos artigos na plataforma da Revista, é obrigatório que apenas um autor tenha o registro no ORCID (Open Researcher and Contributor ID), mas quando o artigo for aprovado e para ser publicado no SciELO, todos os autores deverão ter o registro no ORCID. Portanto, aos autores que não o têm ainda, é recomendado que façam o registro e o validem no ScholarOne. Para se registrar no ORCID entre no site (<https://orcid.org/>) e para validar o ORCID no ScholarOne, acesse o site (<https://mc04.manuscriptcentral.com/cscscielo>), e depois, na página de Log In, clique no botão Log In With ORCID iD.

#### Autoria

1. As pessoas designadas como autores devem ter participado na elaboração dos artigos de modo que possam assumir publicamente a responsabilidade pelo seu conteúdo. A qualificação como autor deve pressupor: a) a concepção e o delineamento ou a análise e interpretação dos dados, b) redação do artigo ou a sua revisão crítica, e c) aprovação da versão a ser publicada.

2. O limite de autores no início do artigo deve ser no máximo de oito. Os demais autores serão incluídos no final do artigo.

3. Em nenhum arquivo inserido, deverá constar identificação de autores do manuscrito.

#### Nomenclaturas

1. Devem ser observadas rigidamente as regras de nomenclatura de saúde pública/saúde coletiva, assim como abreviaturas e convenções adotadas em disciplinas especializadas. Devem ser evitadas abreviaturas no título e no resumo.
2. A designação completa à qual se refere uma abreviatura deve preceder a primeira ocorrência desta no texto, a menos que se trate de uma unidade de medida padrão.

#### Ilustrações e Escalas

1. O material ilustrativo da revista C&SC compreende tabela (elementos demonstrativos como números, medidas, percentagens, etc.), quadro (elementos demonstrativos com informações textuais), gráficos (demonstração esquemática de um fato e suas variações), figura (demonstração esquemática de informações por meio de mapas, diagramas, fluxogramas, como também por meio de desenhos ou fotografias). Vale lembrar que a revista é impressa em apenas uma cor, o preto, e caso o material ilustrativo seja colorido, será convertido para tons de cinza.
2. O número de material ilustrativo deve ser de, no máximo, cinco por artigo (com limite de até duas laudas cada), salvo exceções referentes a artigos de sistematização de áreas específicas do campo temático. Nesse caso os autores devem negociar com os editoreschefes.
3. Todo o material ilustrativo deve ser numerado consecutivamente em algarismos arábicos, com suas respectivas legendas e fontes, e a cada um deve ser atribuído um breve título. Todas as ilustrações devem ser citadas no texto.
4. Tabelas e quadros devem ser confeccionados no programa Word ou Excel e enviados com título e fonte. OBS: No link do IBGE (<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv23907.pdf>) estão as orientações para confeccionar as tabelas. Devem estar configurados em linhas e colunas, sem espaços extras, e sem recursos de “quebra de página”. Cada dado deve ser inserido em uma célula separada. Importante: tabelas e quadros devem apresentar informações sucintas. As tabelas e quadros podem ter no máximo 15 cm de largura X 18 cm de altura e não devem ultrapassar duas páginas (no formato A4, com espaço simples e letra em tamanho 9).
5. Gráficos e figuras podem ser confeccionados no programa Excel, Word ou PPT. O autor deve enviar o arquivo no programa original, separado do texto, em formato editável (que permite o recurso “copiar e colar”) e também em pdf ou jpeg, TONS DE CINZA. Gráficos gerados em programas de imagem devem ser enviados em jpeg, TONS DE CINZA, resolução mínima de 200 dpi e tamanho máximo de 20cm de altura x 15 cm de

largura. É importante que a imagem original esteja com boa qualidade, pois não adianta aumentar a resolução se o original estiver comprometido. Gráficos e figuras também devem ser enviados com título e fonte. As figuras e gráficos têm que estar no máximo em uma página (no formato A4, com 15 cm de largura x 20cm de altura, letra no tamanho 9).

6. Arquivos de figuras como mapas ou fotos devem ser salvos no (ou exportados para o) formato JPEG, TIF ou PDF. Em qualquer dos casos, deve-se gerar e salvar o material na maior resolução (300 ou mais DPI) e maior tamanho possíveis (dentro do limite de 21cm de altura x 15 cm de largura). Se houver texto no interior da figura, deve ser formatado em fonte Times New Roman, corpo 9. Fonte e legenda devem ser enviadas também em formato editável que permita o recurso “copiar/colar”. Esse tipo de figura também deve ser enviado com título e fonte.

7. Os autores que utilizam escalas em seus trabalhos devem informar explicitamente na carta de submissão de seus artigos, se elas são de domínio público ou se têm permissão para o uso.

#### Agradecimentos

1. Quando existirem, devem ser colocados antes das referências bibliográficas.
2. Os autores são responsáveis pela obtenção de autorização escrita das pessoas nomeadas nos agradecimentos, dado que os leitores podem inferir que tais pessoas subscrevem os dados e as conclusões.
3. O agradecimento ao apoio técnico deve estar em parágrafo diferente dos outros tipos de contribuição.

#### Financiamento

RC&SC atende Portaria N0 206 do ano de 2018 do Ministério da Educação/Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/Gabinete sobre obrigatoriedade de citação da CAPES para os trabalhos produzidos ou publicados, em qualquer mídia, que decorram de atividades financiadas, integral ou parcialmente, pela CAPES. Esses trabalhos científicos devem identificar a fonte de financiamento através da utilização do código 001 para todos os financiamentos recebidos.

#### Referências

1. As referências devem ser numeradas de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem sendo citadas no texto. No caso de as referências serem de mais de dois autores,

no corpo do texto deve ser citado apenas o nome do primeiro autor seguido da expressão et al.

2. Devem ser identificadas por números arábicos sobrescritos, conforme exemplos abaixo: ex. 1: “Outro indicador analisado foi o de maturidade do PSF” 11 (p.38).

ex. 2: “Como alerta Maria Adélia de Souza 4, a cidade...”

As referências citadas somente nos quadros e figuras devem ser numeradas a partir do número da última referência citada no texto.

3. As referências citadas devem ser listadas ao final do artigo, em ordem numérica, seguindo as normas gerais dos Requisitos uniformes para manuscritos apresentados a periódicos biomédicos ([http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)).

4. Os nomes das revistas devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>)

5. O nome de pessoa, cidades e países devem ser citados na língua original da publicação.

#### Exemplos de como citar referências

##### Artigos em periódicos

1. Artigo padrão (incluir todos os autores sem utilizar a expressão et al.)

Pelegri ML, Castro JD, Drachler ML. Eqüidade na alocação de recursos para a saúde: a experiência no Rio Grande do Sul, Brasil. Cien Saude Colet 2005; 10(2):275-286.

Maximiano AA, Fernandes RO, Nunes FP, Assis MP, Matos RV, Barbosa CGS, OliveiraFilho EC. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. Cien Saude Colet 2005; 10(2):483-491.

2. Instituição como autor

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. Med J Aust 1996; 164(5):282-284.

3. Sem indicação de autoria

Cancer in South Africa [editorial]. S Afr Med J 1994; 84(2):15.

4. Número com suplemento

Duarte MFS. Maturação física: uma revisão de literatura, com especial atenção à criança brasileira. Cad Saude Publica 1993; 9(Supl.1):71-84.

5. Indicação do tipo de texto, se necessário

Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet* 1996; 347(9011):1337.

Livros e outras monografias

6. Indivíduo como autor

Cecchetto FR. Violência, cultura e poder. Rio de Janeiro: FGV; 2004.

Minayo MCS. O desafio do conhecimento: pesquisa qualitativa em saúde. 8ª ed. São Paulo, Rio de Janeiro: Hucitec, Abrasco; 2004.

7. Organizador ou compilador como autor

Bosi MLM, Mercado FJ, organizadores. Pesquisa qualitativa de serviços de saúde. Petrópolis: Vozes; 2004.

8. Instituição como autor

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Controle de plantas aquáticas por meio de agrotóxicos e afins. Brasília: DILIQ/IBAMA; 2001.

9. Capítulo de livro

Sarcinelli PN. A exposição de crianças e adolescentes a agrotóxicos. In: Peres F, Moreira JC, organizadores. É veneno ou é remédio. Agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 43-58.

10. Resumo em Anais de congressos

Kimura J, Shibasaki H, organizadores. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

11. Trabalhos completos publicados em eventos científicos

Coates V, Correa MM. Características de 462 adolescentes grávidas em São Paulo. In: Anais do V Congresso Brasileiro de adolescência; 1993; Belo Horizonte. p. 581-582.

12. Dissertação e tese

Carvalho GCM. O financiamento público federal do Sistema Único de Saúde 1988-2001 [tese]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública; 2002.

Gomes WA. Adolescência, desenvolvimento puberal e sexualidade: nível de informação de adolescentes e professores das escolas municipais de Feira de Santana – BA [dissertação]. Feira de Santana (BA): Universidade Estadual de Feira de Santana; 2001.

Outros trabalhos publicados

## 13. Artigo de jornal

Novas técnicas de reprodução assistida possibilitam a maternidade após os 40 anos. *Jornal do Brasil*; 2004 Jan 31; p. 12

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. *The Washington Post* 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).

## 14. Material audiovisual

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995.

## 15. Documentos legais

Brasil. Lei nº 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 1990; 19 set.

## Material no prelo ou não publicado

Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. *N Engl J Med*. In press 1996.

Cronemberg S, Santos DVV, Ramos LFF, Oliveira ACM, Maestrini HA, Calixto N. Trabeculectomia com mitomicina C em pacientes com glaucoma congênito refratário. *Arq Bras Oftalmol*. No prelo 2004.

## Material eletrônico

## 16. Artigo em formato eletrônico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial on the Internet]. 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1):[about 24 p.]. Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Lucena AR, Velasco e Cruz AA, Cavalcante R. Estudo epidemiológico do tracoma em comunidade da Chapada do Araripe – PE – Brasil. *Arq Bras Oftalmol* [periódico na Internet]. 2004 Mar-Abr [acessado 2004 Jul 12];67(2): [cerca de 4 p.]. Disponível em: <http://www.abonet.com.br/abo/672/197-200.pdf>

## 17. Monografia em formato eletrônico

CDI, clinical dermatology illustrated [CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2ª ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

## 18. Programa de computador

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.



Os artigos serão avaliados através da Revisão de pares por no mínimo três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis e rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis.