

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE DE
MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**PREVALÊNCIA DO GENÓTIPO DE RISCO G1/G2 DO GENE DA
APOLIPOPROTEÍNA L1 (*APOL1*) E ASSOCIAÇÃO COM DOENÇA RENAL CRÔNICA
NÃO DIABÉTICA EM AFROBRASILEIROS NO RIO GRANDE DO SUL**

CELIA MARIANA BARBOSA DE SOUZA

Porto Alegre 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE DE
MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**PREVALÊNCIA DO GENÓTIPO DE RISCO G1/G2 DO GENE DA
APOLIPOPROTEÍNA L1 (*APOL1*) E ASSOCIAÇÃO COM DOENÇA RENAL CRÔNICA
NÃO DIABÉTICA EM AFROBRASILEIROS NO RIO GRANDE DO SUL**

CELIA MARIANA BARBOSA DE SOUZA

Orientador: Prof. Dr. FRANCISCO JOSÉ VERÍSSIMO VERONESE

Co-Orientadora : Prof^ª Dr^ª FERNANDA SALES LUIZ VIANNA Tese apresentada como
requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade
Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-
Graduação em Medicina: Ciências Médicas.

Porto Alegre 2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao professor Francisco Veríssimo Veronese por me apresentar tema relevante como as variantes de risco da APOL1 em Afrodescendentes, foi um grande presente, obrigada por acolher, guiar e auxiliar nas dificuldades. Agradeço a professora Fernanda Sales Luiz Vianna por me apresentar a importância da genética, por valorizar meu trabalho, por ampliar para a busca da ancestralidade no nosso estudo, obrigada por me ensinar a contar uma história, obrigada por acolher, guiar e auxiliar nas dificuldades. Agradeço aos Bolsistas Vitor Monteiro Moraes, Mauro Renato Ribeiro Soares Junior, Franciele Moreira Barbosa, Wiliam Cardoso da Silva, Maicom Douglas Torely, Marilea Furtado, pela dedicação na realização das coletas, buscas e a troca constante de energias positivas. Obrigada meus filhos queridos.

Agradeço às bolsistas de pós-doc Giovanna Giudicelli e Bibiana de Oliveira Fam por me incluírem em suas jornadas, por me acolherem, guiarem e auxiliarem a decifrar os códigos da genética. Obrigada por tornarem o final do doutorado mais leve. Agradeço a Universidade Federal do Rio Grande do Sul por me proporcionar a realização de um trabalho de qualidade. Agradeço ao Pós Graduação das Ciências Médicas, possibilitou o desenvolvimento do meu trabalho, obrigada pelas orientações iniciais dadas pelos professores do programa. Agradeço ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre por possibilitar meu desenvolvimento profissional e acadêmico; realizar o doutorado nesta instituição fez toda a diferença. Agradeço o Grupo de Pós Graduação e Pesquisa (Diretoria de Pesquisa), agradeço o apoio do FIPE, e da USP também. Agradeço por me beneficiar dos núcleos temáticos do 5º andar, durante a finalização da tese, este acesso fez toda a diferença. Agradeço ao Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelo apoio incondicional para realização do Doutorado.

Agradeço a Diretoria de Enfermagem em nome da professora Ninon Girardon da Rosa pelo apoio incondicional para realização do Doutorado. Agradeço o apoio da super secretária Sandra Regina dos Santos Urdina, incansável em atender meus pedidos.

Agradeço ao Centro de Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela acolhida ao projeto. Agradeço ao Serviço de Medicina Ocupacional, em nome da Chefia de Serviço Fábio Dantas, pela acolhida no serviço e pelo apoio incondicional para realização do Doutorado. Agradeço às minhas colegas Enfermeiras do Serviço de Medicina Ocupacional, por me apoiarem na fase de finalização da tese. Agradeço ao Serviço de Nefrologia da Santa Casa de Misericórdia em nome do Professor João Carlos Goldani, e agradeço a Professora Elizete Keitel. Agradeço as recepcionistas Iracema e Iris, e Enfermeira Dejjane Rocha da Rosa pelo auxílio e organização da agenda para coletas. Agradeço as Clínicas de Hemodiálise que possibilitaram a inclusão dos pacientes para o estudo: Instituto de Doenças

Renais de Porto Alegre (IDR) de Porto Alegre; Centro de Diálise e Transplante (CDT) de Porto Alegre, Serviços de Doenças Renais de Gravataí; Serviços de Doenças Renais de Viamão; Serviços de Nefrologia e Cardiologia (Nefrocor) de Cachoeirinha, Hemodiálise de Osório, e Unidade de Hemodiálise da Santa Casa de Misericórdia de Pelotas. Agradeço aos professores Fernando Saldanha Thomé e Professor Ivan Antonello, por auxiliarem na realização dos meus primeiros estudos relacionando a Doença Renal e a População Afrobrasileira. Agradeço ao Professor Antonio Alberto da Silva, por ser o precursor dos estudos de relação da população afro-brasileira e Doença Renal. Agradeço à doutora Fátima de Oliveira (póstumas) pela trajetória de pesquisa anti racista.

Agradeço carinhosamente as mulheres e homens negros que de forma generosa participaram da pesquisa, contribuindo assim para uma melhor compreensão da DRC em afrobrasileiros do sul do país.

Agradeço a minha Mãe Lobelia Barbosa de Souza e meu Pai Wanderlei Nascimento de Souza que me guiaram, me deram colo e limites, estariam orgulhosos se estivessem comigo neste momento. Agradeço às minhas amigas e aos meus amigos, sem vocês não é possível ser feliz. Agradeço meus familiares, tias e primas, primos que estão próximos ou longe. Agradeço a meus filhos Mariana de Souza Martins, Marcos de Souza Martins, minha irmã Claudia Barbosa Graham, minha afilhada Raissa Tim Ferreira que partiu cedo, e meu querido cunhado recém falecido, Eduardo Graham. Se estou aqui agradecendo a todas e todos vocês é porque meus antepassados lutaram e morreram para que eu pudesse evoluir.

RESUMO

Introdução: Indivíduos de ascendência africana desenvolvem doença renal crônica (DRC), especialmente doença renal crônica terminal associada à hipertensão arterial sistêmica (HAS) em uma taxa de quatro a cinco vezes maior do que Eurodescendentes. Portadores das variantes de risco G1/G2 no gene da Apolipoproteína 1 (*APOLI*), localizado no cromossomo 22, apresentam um risco três vezes maior de desenvolver nefropatias do que a população sem ascendência africana. No Brasil, a população afrodescendente soma 56% da população geral, e sofreu os agravos de quase 04 séculos de escravidão, influenciando negativamente na inserção dessa população na sociedade brasileira, contribuindo para um desigual e desfavorável acesso a direitos e oportunidades, em especial à saúde. Até o momento existem poucos estudos no Brasil investigando a prevalência das variantes de risco do gene da *APOLI* em afrodescendentes, e a DRC associadas às variantes do *APOLI*. **Objetivo:** O objetivo primário deste estudo foi determinar a prevalência do genótipo de alto risco G1+G2 do gene da *APOLI* em pacientes afrodescendentes portadores de doença renal crônica associada a hipertensão arterial sistêmica e glomeruloesclerose segmentar e focal primária, comparado a indivíduos afrodescendentes saudáveis do Rio Grande do Sul. **Métodos:** Foi realizada uma revisão bibliográfica sobre o impacto de *APOLI* na DRC em diferentes populações, em especial no Brasil. A revisão integrativa se deu em bases de dados públicas Pubmed, Lilacs e Scielo, a partir da busca de referências sobre a presença de variantes de risco do gene *APOLI* em afrodescendentes. Foram consideradas todas as publicações em inglês, espanhol e português em um período de doze anos, desde a descrição das variantes G1 e G2 do *APOLI* em 2010, até outubro de 2020. Além disso, conduzimos um estudo de caso-controle no qual foram recrutados pacientes adultos dos ambulatórios de Doença Renal Crônica, de Glomerulopatias das Unidades de Hemodiálises do Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. Além disso, foram recrutados pacientes das Clínicas de Hemodiálises dos municípios de Viamão, Gravataí, Cachoeirinha, Pelotas e Osório. Como controles, foram selecionados trabalhadores afrodescendentes saudáveis do HCPA, sem a evidência clínico-laboratorial de doença renal. A caracterização de ambos os grupos foi realizada a partir de dados clínico-laboratoriais prévios, além de uma amostra de sangue para avaliação de parâmetros bioquímicos e extração de DNA. A presença das variantes de *APOLI* e as análises de ancestralidade foram realizadas pelo sequenciamento completo do genoma por sequenciamento de nova geração. O impacto dos alelos de risco no desenvolvimento da DRC foi estimado por regressão logística binária uni e multivariada. As análises foram conduzidas no software SPSS. **Resultados:** A revisão da literatura identificou 524 artigos, sendo que 267 foram considerados e analisados, sendo sete artigos brasileiros. A presença dos

alelos G1/G2 confere risco para diferentes tipos de doença renal em indivíduos de ascendência africana, principalmente na DRC associada à hipertensão arterial sistêmica (HAS) não-diabética. Dos sete estudos na população brasileira, apenas três realizaram genotipagem de pacientes para avaliação do risco da variante *APOLI*. Os estudos avaliaram as variantes no desenvolvimento de DRC terminal, nefrite lúpica, e tempo para início da hemodiálise. Além disso, pesquisas brasileiras de genotipagem de *APOLI* em material coletado de sangue e mucosa oral demonstraram a qualidade dos protocolos de genotipagem, proporcionando mais uma possibilidade de mapeamento gênico. No nosso estudo caso controle, coletamos 345 indivíduos recrutados, sendo que para 328 foi possível realizar a análise molecular. A frequência dos alelos de G1 foi de 11% e G2 5%. A análise de ancestralidade global mostrou uma média de 49% de ancestralidade africana, 33% de ancestralidade europeia e 18% nativo-americana. A análise de regressão logística univariada mostrou um risco aumentado (OR = 4,55; IC 95% 1,66-12,46; p= 0.03) para desenvolvimento de DRC associado aos genótipos de *APOLI*, e considerando sexo e idade como variáveis de ajuste do modelo de regressão multivariada, o risco estimado para os alelos G1 e G2 ficou em OR = 4.717 (IC 95% 1.53 - 14.53, p=0.007). **Conclusão:** Embora DRC seja uma doença prevalente com alta morbidade e mortalidade e a população brasileira seja em sua maioria autodeclarada negra, existem poucos estudos sobre o impacto dos alelos de risco de *APOLI* no Brasil. O nosso estudo identificou uma frequência dos alelos G1 e G2 e um risco para desenvolvimento de DRC na população negra do RS não negligenciável, chamando a atenção para a necessidade de inquéritos nacionais sobre esta temática e manejo do risco associado a *APOLI*.

Palavras chave: Doença Renal Crônica; *APOLI*; Afrodescendentes; Afro-brasileiros; Saúde Pública

ABSTRACT

Background: Individuals of African descent develop chronic kidney disease (CKD), especially end-stage chronic kidney disease associated with systemic arterial hypertension (SAH) at a rate four to five times higher than people without African descent. Carriers of the G1/G2 risk variants in the Apolipoprotein 1 gene (*APOLI*), located on chromosome 22, have a three times greater risk of developing nephropathies than the population without African ancestry. In Brazil, the Afro-descendant population accounts for 56% of the general population, and suffered the injuries of almost four centuries of slavery, which negatively influenced this population in Brazilian society contributing to unequal and unfavorable access to the rights and opportunities, especially to health system. So far, there are few studies in Brazil investigating the prevalence of risk variants of the *APOLI* gene in African descendants, and CKD associated with *APOLI* variants. **Objectives:** The primary objective of this study was to determine the prevalence of the high-risk G1+G2 genotype of the *APOLI* gene in Afro-descendant patients with chronic kidney disease associated with systemic arterial hypertension and segmental and primary focal glomerulosclerosis, compared to individuals healthy Afro-descendants from Rio Grande do Sul. **Methodology:** A literature review was carried out on the impact of *APOLI* on CKD in different populations, especially in Brazil. The integrative review was carried out in public databases Pubmed, Lilacs, and Scielo, from the search for references on the presence of risk variants of the *APOLI* gene in Afro-descendants. We considered all publications in English, Spanish and Portuguese over twelve years, from the description of *APOLI* G1 and G2 variants in 2010 up to October 2020. In addition, we conducted a case-control study in which we recruited adult patients from the Chronic Kidney Disease and Glomerulopathies outpatient clinics of the Hemodialysis Units of the Nephrology Service of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) and Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. In addition, patients from Hemodialysis Clinics in the municipalities of Viamão, Gravataí, Cachoeirinha, Pelotas, and Osório were recruited. As controls, healthy workers of African descent from the HCPA, without clinical and laboratory evidence of kidney disease, were selected. The characterization of both groups was performed based on previous clinical and laboratory data, in addition to blood samples for biochemical parameters evaluation and DNA extraction. The presence of *APOLI* variants and ancestry analyzes were performed by whole-genome sequencing by next-generation sequencing. The impact of risk alleles on the development of CKD was estimated by univariate and multivariate binary logistic regression. Analyzes were conducted using SPSS software. **Results:** The literature review identified 524 articles, of which 267 were considered and analyzed, seven of which were Brazilian articles. The presence of the G1/G2 alleles confers risk for different types of kidney disease in individuals of African

descent, mainly in non-diabetic CKD associated with SAH. Of the seven studies in the Brazilian population, only three carried out genotyping of patients to assess the risk of the *APOL1* variant. The studies evaluated variants in the development of terminal CKD, lupus nephritis, and time to start hemodialysis. In addition, Brazilian research on *APOL1* genotyping in material collected from blood and oral mucosa demonstrated the quality of genotyping protocols, providing another possibility for gene mapping. In our case-control study, we collected 345 recruited individuals, and for 328 it was possible to perform molecular analysis. The frequency of G1 alleles was 11% and G2 5%. Global ancestry analysis showed an average of 49% African ancestry, 33% European ancestry, and 18% Native American. Univariate logistic regression analysis showed an increased risk (OR = 4.55; 95% CI 1.66-12.46; p=0.03) for developing CKD associated with *APOL1* genotypes and considering sex and age as variables of fitting the multivariate regression model, the estimated risk for the G1 and G2 alleles was OR = 4.717 (95% CI 1.53

- 14.53, p=0.007). **Conclusion:** Although CKD is a prevalent disease with high morbidity and mortality and the Brazilian population is mostly self-declared black, there are few studies on the impact of *APOL1* risk alleles in Brazil. Our study identified a non-negligible frequency of the G1 and G2 alleles and a risk for developing CKD in the Afro-descendant population of RS, drawing attention to the need for national surveys on this topic and risk management associated with *APOL1*.

Keywords: Chronic Kidney Disease; *APOL1*; Afro-descendants; Afro-Brazilians; Public health

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Figura esquemática demonstrando as estratégias metodológica adotadas na revisão integrativa da literatura científica

17

Figura 2. Frequência dos alelos de risco G1 (esquerda) e G2 (direita) de *APOL1* na África sub-Sahariana, incluindo em tons de verde dados sobre endemia da *Trypanosomiasis* no continente africano...

18

Figura 3: Padrões histológicos da nefropatia induzida pelo *APOL1*. A: glomerulopatia colapsante. B: glomeruloesclerose segmentar e focal. C: glomeruloesclerose global, com desaparecimento do glomérulo obsolecente. D: tireoidização e dilatação microcística dos túbulos renais e atrofia tubular.

22

Figura 4. Representação do fluxo de africanos procedente da África para o Brasil

23

Figura 5. Representação esquemática do marco conceitual do estudo. Esse esquema foi elaborado com o objetivo de apresentar a base teórica que sustenta a investigação da pesquisa

27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição dos resultados incidentes ajustados para razão de chances, de acordo com o modelo genético e com status de risco do *APOLI* no estudo AASK. 20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APOLI - Apolipoproteína L1

ASSK - African American Study of Kidney Disease and Hypertension CKD -
Chronic Kidney Disease

DRC - Doença renal crônica

DRCT - Doença renal crônica terminal TFG_e -Taxa
de filtração glomerular estimada

GESF - Glomeruloesclerose Segmentar e Focal HAS -
Hipertensão Arterial

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre HIV -
Vírus da Imunodeficiência Humana HIVAN - Nefropatia
associada ao HIV

KDIGO - Kidney Diseases Improving Global Outcomes

MYH9 - Myosin Heavy Chain 9

PAS - Pressão arterial

SBH - Sociedade Brasileira de Hipertensão SBN -
Sociedade Brasileira de Nefrologia SNP - Single

Nucleotide Polymorphism SRAP -Serum Resistance
Associated Protein

NEPTNE - Nephrotic Syndrome Study Network

HDL-3 - Lipoproteína de alta densidade-

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	3
RESUMO	5
ABSTRACT	7
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	11
SUMÁRIO	12
1. INTRODUÇÃO	14
2. Revisão da Literatura	17
2.1 Estratégia para localizar e selecionar as informações	17
2.2. APOL1 e Doença Renal Crônica associada a Hipertensão Arterial	17
2.3. APOL1 e Glomeruloesclerose Segmentar e Focal e Nefropatia do HIV	20
2.4. Estudos do impacto de APOL1 na DRC na população Brasileira	23
3. MARCO CONCEITUAL	25
4. JUSTIFICATIVA	28
5. OBJETIVOS	29
5.1 Objetivo primário	29
5.2 Objetivos secundários	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
7. ARTIGOS	34
7.1 Artigo 1	34
7.2 Artigo 2	51
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
9. PERSPECTIVAS FUTURAS	68
10. ANEXOS E/OU APÊNDICES	70
ANEXO I	70
ANEXO II	72
ANEXO III	74
ANEXO IV	78
ANEXO V	81

ANEXO VI	82
ANEXO VII	87
ANEXO VIII	95

1. INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é um problema de saúde pública em todo o mundo. A DRC afeta em diversos níveis a condição de saúde de um indivíduo, podendo levar desde a uma diminuição da função renal sem manifestações clínicas até ao desenvolvimento de doença renal crônica terminal (DRCT) e morte por doença cardiovascular. Estima-se que a prevalência da fase final da doença renal na Europa é de 700 pacientes por milhão, e 1.400 pacientes por milhão nos Estados Unidos¹. Segundo a Sociedade Brasileira de Nefrologia, no Censo Brasileiro de Diálise de 2021, o número total estimado de pacientes em diálise era de 144.779. As taxas estimadas de prevalência e incidência de pacientes por milhão de habitantes (pmp) foram de 665 e 218, respectivamente. Destes, 92,6% estavam em hemodiálise (HD) e 7,4% em diálise peritoneal (DP); 23% estavam na lista de espera para transplante renal. O número estimado de mortes para todo o ano foi de 35.413. A taxa de mortalidade bruta anual está entre 18 e 20% desde 2016, aumentando 24,5% em 2020².

A definição da DRC, segundo a última revisão do *Kidney Diseases Improving Global Outcomes* (KDIGO) de 2012³, é a presença de dano renal ou diminuição da função renal por três ou mais meses, com implicações para a saúde. A evolução da DRC é classificada em estágios de acordo com o nível da taxa de filtração glomerular estimada (TFGe): 1: >90 ml/min/1,73 m²; 2: 60-89 ml/min/1,73 m²; 3a: 45-59 ml/min/1,73 m²; 3b: 30-44 ml/min/1,73 m²; 4: 15-29 ml/min/1,73 m²; 5: <15 ml/min/1,73 m². A DRC pode ter múltiplos fatores de riscos e causas, sendo a Glomeruloesclerose Segmentar e Focal (GESF) o tipo de doença glomerular primária mais prevalente como fator etiológico de DRCT nas Américas^{4,5A}. A GESF caracteriza-se histologicamente por um padrão de lesão glomerular associada a diferentes etiologias, com aumento de matriz mesangial e esclerose segmentar no glomérulo, sendo focal no rim por acometer alguns, mas não todos, os glomérulos. A GESF pode ser uma doença primária ou idiopática, ou ser secundária a outras doenças, incluindo a infecção pelo HIV, obesidade, nefropatia do refluxo, hipertensão arterial sistêmica grave ou redução da massa renal⁴. A diabetes mellitus constitui a principal etiologia da doença renal crônica, sendo que cerca de 90% dos pacientes com doença renal do diabetes apresentam Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS). A DRC secundária à HAS é seis vezes mais comum nos afro-americanos do que na população em geral⁵. Na verdade, vários estudos apontam uma maior taxa de DRC na população afrodescendente. A incidência de DRCT, nos EUA, por exemplo, é quatro vezes maior em afro-americanos do que em brancos⁶. No Brasil, o Registro Nacional de Diálise publicou dados do período de 2000-2012 em que 40,5% das pessoas em programa crônico de diálise se autodeclararam como afrodescendentes (pretos e pardos); entretanto, 13,2% dos pacientes em diálise no Brasil não haviam informado sobre o quesito raça/cor⁷. A DRCT é um dos exemplos mais impactantes

de disparidades raciais e étnicas nos indicadores de saúde nos Estados Unidos. Neste contexto, observa-se que embora a diabetes mellitus e a HAS sejam as principais causas de DRCT na maioria dos casos, a influência do *status* socioeconômico, do estilo de vida e de outros fatores clínicos contribuem para o excesso de risco de DRCT em afro americanos⁶.

A investigação científica tem contribuído grandemente para o entendimento do risco aumentado de doença renal não atribuível a diabetes mellitus em afrodescendentes nos últimos anos. Em 2008, foram publicados dois estudos localizando o gene *myosin heavy-chain 9 (MYH9)* como de alto impacto para explicar a DRCT não diabética⁸ e GESF primária⁹ em afro-americanos. Em 2010, um grupo de pesquisadores realizou uma série de estudos sobre o mapeamento genético em afro-americanos, identificando que em 13% dos indivíduos a região genômica do gene da Apolipoproteína 1 (*APOLI*), no cromossomo 22, contendo três variantes genéticas, chamadas de alelos G1 e G2, estavam associadas a risco de DRC em modelo de herança próxima à autossômica recessiva⁹. As variantes do gene *APOLI* são comuns em cromossomos de indivíduos descendentes de africanos, mas raras em cromossomos de descendentes de europeus. Ensaio *in vitro* revelaram que os indivíduos portadores das variantes de *APOLI* são capazes de lisar e dar resistência ao *Trypanosoma brucei rhodesiense*, causador da doença do sono em humanos e primatas. Acredita-se que as variantes de risco G1 e G2 de *APOLI* foram evolutivamente selecionadas por conferirem proteção à infecções por *Trypanosoma* em africanos, no entanto, ao custo de gerar doença renal progressiva nesta população¹⁰.

Estima-se que os alelos de risco do gene *APOLI* estejam presentes em aproximadamente 30% dos afro-americanos, mas são raros em indivíduos brancos¹⁰. Estudos realizados na América do Norte concentrando nos Estados Unidos, América do Sul com estudos no Brasil e Colômbia, Continente Africano, Congo, Nigéria e África Central, demonstraram que afrodescendentes com os dois alelos de risco G1 e G2 em *APOLI* são mais suscetíveis a desenvolver DRC não diabética do que afrodescendentes com apenas um ou nenhum alelo de risco^{10,11,12,13}. No entanto, escassos estudos foram realizados na população Brasileira, onde a DRC é uma doença prevalente na população geral, desta população os afrodescendentes são a maioria.

A população brasileira é composta por grande diversidade étnica comparada a outros países tanto da América Latina e do mundo, mas também dentro das diferentes regiões do país¹⁴. De maneira geral, 56% da população brasileira se autodeclara como negra, mas este percentual na região sul cai para 21,6% devido à particularidades étnicas nos estados do sul¹⁵. Essas particularidades são resultado da organização de povoamento, escravização e imigração de europeus no país. Os séculos de escravização da população negra influenciaram não só a composição da população brasileira, mas também impactaram negativamente na inserção dessa população na sociedade, contribuindo para um desigual e

desfavorável acesso a direitos e oportunidades, inclusive os relacionados à saúde¹⁶. Essas características se refletem no quadro epidemiológico de saúde dessa população, evidenciando inequidades e vulnerabilidades no acesso às condições promotoras de saúde¹⁶. Neste contexto, é fundamental investigar populações de risco para DRC, e assim determinar no nosso meio a prevalência dos alelos G1/G2 de *APOL1*, especificamente nos indivíduos afrobrasileiro com HAS crônica ou GESF residentes no sul do Brasil.

1. Revisão da Literatura

1.1 Estratégia para localizar e selecionar as informações

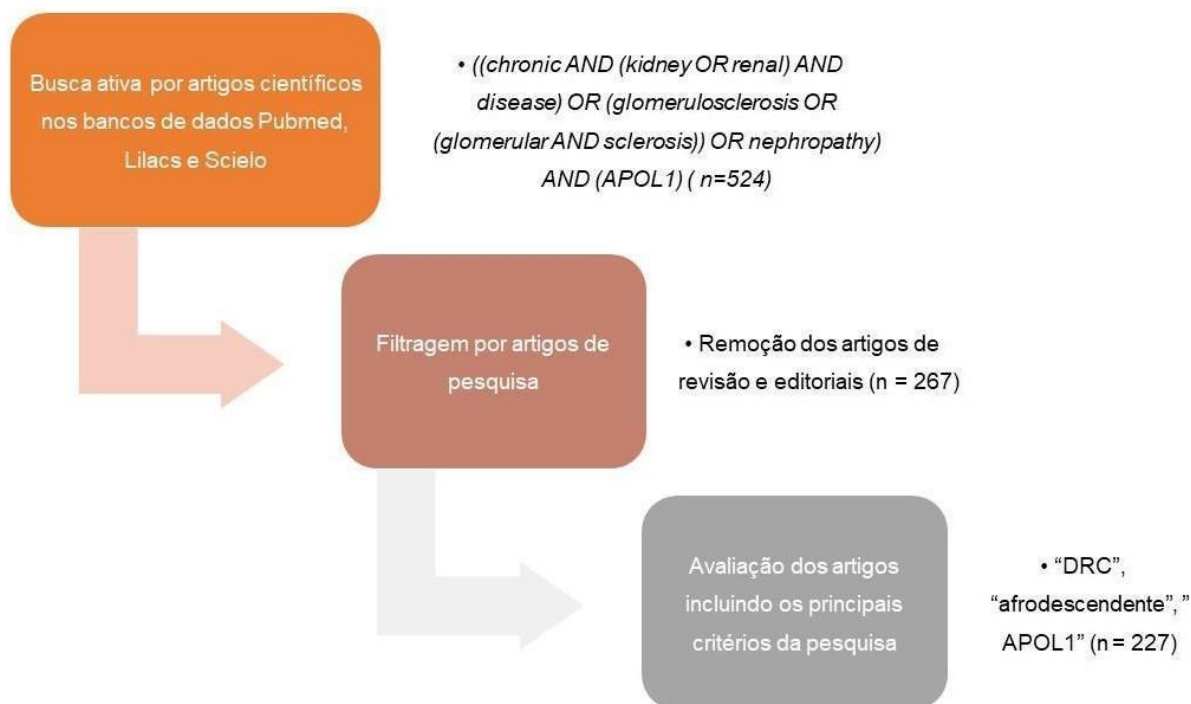


Figura 1. Figura esquemática demonstrando as estratégia metodológica adotada na revisão integrativa da literatura científica

1.2 Apolipoproteína 1 (APOL1) e doença renal

A Apolipoproteína 1 (APOL1) é codificada por um dos seis genes pertencentes à família dos genes da apolipoproteína, estando agrupados no cromossomo 22. O APOL1 ramificou-se dos demais

genes há 30-35 milhões de anos, estima-se que os alelos G1 e G2 surgiram há cerca de 4000 anos na África sendo funcional em poucas espécies de primatas. Circula no sangue como parte do complexo HDL-3, e se expressa em diversos tecidos como pulmão, placenta, pâncreas, fígado e rins¹⁷. A *APOL1* atua suprimindo a replicação e alastramento do *Trypanosoma brucei* nos seres humanos^{18,19}. Além da função tripanolítica, a *APOL1* também está envolvida na morte celular programada de suas células hospedeiras, assim como numa função intracelular, causando morte por autofagia de células humanas, e envolvimento no metabolismo lipídico^{20,21}. A *APOL1* confere suscetibilidade a podócitos e/ou lesão microvascular, de modo que entre indivíduos com dois alelos de risco, estressores celulares diversos adicionais teriam maior probabilidade de levar à disfunção celular, lesão e talvez perda²².

As variantes G1 e G2 estão agrupadas na região de 10kb no último éxon do gene da *APOL1*, tendo baixa probabilidade de recombinação e sendo mutuamente exclusivas¹⁰. O alelo G1 consiste em duas substituições de aminoácidos: uma substituição de uma serina no resíduo 342 para uma glicina (S342G), e de uma substituição de Isoleucina no resíduo 384 por Metionina (I384M), às quais estão em desequilíbrio de ligação. A variante G2 é caracterizada por uma deleção de 6 pares de bases que leva a uma inserção/deleção *in frame* de dois aminoácidos, a Asparagina-388 e Tirosina-389 (rs71785313, 388N389Y)¹⁰. Estima-se que as variantes G1 e G2 do gene *APOL1* surgiram há cerca de 4000 anos na África, aumentando rapidamente em frequência, caracterizando uma ancestralidade recente (<5000 anos). Os alelos G1 ou G2 estão presentes em 46% dos cromossomos na população de Yoruba, Nigéria. Em contraste, aos ancestrais dos europeus que partiram da África milênios antes, a população europeia não é portadora dos alelos de risco^{8,17}. O estudo de Freedman *et al*²⁴ revisou dados sobre a frequência dos alelos de alto risco de G1 e G2, relacionando-os ao *Trypanosoma brucei gambiense* e *Trypanosomas brucei rhodesiense* na África sub-Sahariana (Figura 1).

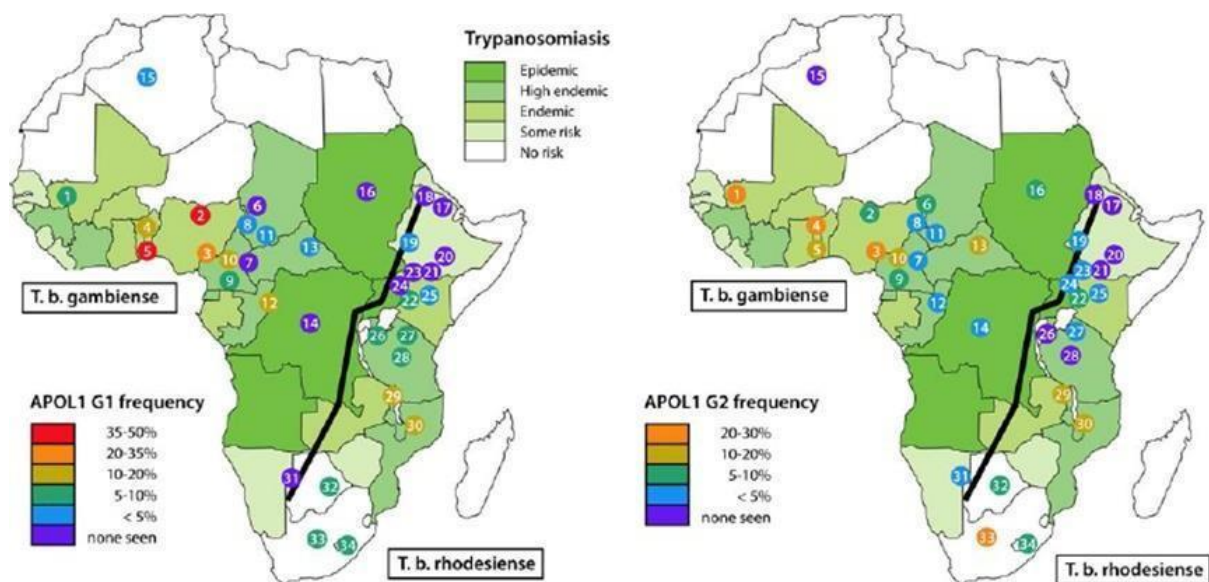


Figura 2. Frequência dos alelos de risco G1 (esquerda) e G2 (direita) de *APOL1* na África sub-Saariana, incluindo em tons de verde dados sobre endemia da *Trypanosomiasis* no continente africano. Fonte: Freedman BI et al, Am J Kidney Dis. 2018; 72(Suppl 1):S8-S16.

O mecanismo pelo qual as variantes G1 e G2 do gene da *APOL1* conferem proteção contra a tripanossomíase (Doença do Sono) tem sido estudado²⁵. Humanos têm resistência inata para alguns membros de *Trypanosoma*. A imunidade é conferida por complexos proteicos circulantes chamados de *trypanosome lytic factors* (TLF), sendo um dos componentes chaves a proteína *APOL1*²⁴. *APOL1* circulam em complexos HDL ou em complexos com IgM, e é captado por tripanossomas na corrente sanguínea. Hipotetiza-se que *APOL1* transita para o lisossomo tripanossomal e se insere na membrana, causando aumento lisossômico e levando à morte do tripanossoma. No entanto, ao longo do processo evolutivo, o *Trypanosoma brucei* desenvolveu um fator de virulência chamado *Serum Resistance Associated Protein* (SRAP) e evoluiu para o parasita *Trypanosoma brucei rhodesiense*, que através desse fator, inativa a *APOL1* causando a doença do sono aguda²⁶. Em um mecanismo de co-evolução patógeno- hospedeiro, as variantes G1 e G2 do gene da *APOL1* surgiram e deram capacidade ao hospedeiro de evadir ao SRAP, fazendo com que *APOL1* permanecesse ativa, assim inativasse o parasita. Por outro lado, para a outra subespécie, *T. brucei gambiense*, que causa a doença do sono crônica, o efeito observado não é o mesmo. O parasita permanece ativo e causa a doença do sono crônica, mas a presença do alelo G1 reduz a gravidade da doença induzida pelo *T. brucei gambiense*, e o alelo G2 confere proteção contra a infecção pelo *T. brucei rhodesiense*^{12,24,26}. Os efeitos dessas variantes de risco não parecem estar relacionados à sua concentração sérica, vinculadas a HDL-3, mas a sua ação local sobre os podócitos no glomérulo. A *APOL1* expressa-se no podócito, nas células parietais, células endoteliais, túbulo proximal e artérias e arteríolas renais, com ativação dos inflamossomas, da proteína quinase R, do fluxo eletrolítico através do plasma ou das membranas intracelulares, e pela alteração do tráfego endotelial associado ao estresse do retículo endoplasmático²². Embora a presença dos alelos de risco G1 e G2 tenham apresentado um fator de proteção para as tripanossomíases, ela também confere um risco para diferentes tipos de doença renal em indivíduos de ancestralidade africana, especialmente a DRC associada a hipertensão arterial sistêmica (HAS), doenças glomerulares como glomeruloesclerose segmentar e focal (GESF), nefropatia do HIV (HIVAN) e nefrite lúpica não diabética^{12,24}.

2.2. *APOL1* e Doença Renal Crônica associada a Hipertensão Arterial

A DRC secundária à HAS é cinco vezes mais comum nos afro-americanos do que na população não afrodescendente, como em brancos. Os afro-americanos mais idosos (idade ≥ 60 anos) nos EUA têm incidência de DRCT de aproximadamente 1.500 ppm, três vezes maior do que em brancos. Entretanto, os afroamericanos mais jovens têm incidência semelhante²⁷.

A partir de estudos de grandes coortes²⁸ foi identificada a frequência dos genótipos de alto (G1 e G2) e de baixo risco (0, G1 ou G2) de *APOLI* e suas associações com doença renal crônica associada a HAS estratificadas por nível de proteinúria, de controle da HAS, do ritmo de perda de função renal, especificando diferenças entre diabéticos e não diabéticos, e relatando desfechos renais adversos ajustados para diferentes modelos progressivos de inclusão de variáveis confundidoras.

O estudo de coorte *African American Study of Kidney Disease and Hypertension (AASK)* entre 2002 e 2007 envolveu pacientes auto-declarados negros e com DRC atribuível à HAS (N=1094)²⁸. Pacientes sem DRCT em 2002 (N=693) foram genotipados para G1/G2. Os desfechos primários foram dobrar a creatinina ou redução da TFGe em 50% do valor inicial, DRCT incidente e o desfecho composto dobrar a creatinina ou desenvolver DRCT, com mediana de 9 anos de seguimento. Os pacientes afro- americanos com G1/G2, comparado com zero ou 1 alelo, tiveram aumento significativo do risco de DRCT (*Hazard ratio*, HR: 2,21, IC95% 1,56-3,14, $p < 0,001$) ou do desfecho composto HR 2,03; 95% 1,50-2,74, $p < 0,001$), como mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição dos resultados incidentes ajustados para razão de chances, de acordo com o modelo genético e com status de risco do *APOLI* no estudo AASK.

<i>APOLI</i> Risk Status	All Patients	End-Stage Renal Disease			End-Stage Renal Disease or Doubling of Serum Creatinine Level			Death before End-Stage Renal Disease		
		no. (%)	Hazard Ratio (95% CI)	P Value	no. (%)	Hazard Ratio (95% CI)	P Value	no. (%)	Hazard Ratio (95% CI)	P Value
All patients	693	204 (29.4)			288 (41.6)			77 (11.1)		
Codominant genetic model										
Patients with 0 copies of <i>APOLI</i> risk variants	234	56 (23.9)	1.00		83 (35.5)	1.00		28 (12.0)	1.00	
Patients with 1 copy of <i>APOLI</i> risk variants	299	69 (23.1)	1.04 (0.72–1.48)	0.83	112 (37.5)	1.15 (0.86–1.53)	0.34	33 (11.0)	0.98 (0.59–1.62)	0.93
Patients with 2 copies of <i>APOLI</i> risk variants	160	79 (49.4)	2.21 (1.56–3.14)	<0.001	93 (58.1)	2.03 (1.50–2.74)	<0.001	16 (10.0)	1.24 (0.67–2.30)	0.50
Recessive genetic model										
Patients with 0 or 1 copy of <i>APOLI</i> risk variants	533	125 (23.5)	1.00		195 (36.6)	1.00		61 (11.4)	1.00	
Patients with 2 copies of <i>APOLI</i> risk variants	160	79 (49.4)	2.16 (1.62–2.89)	<0.001	93 (58.1)	1.88 (1.46–2.41)	<0.001	16 (10.0)	1.25 (0.72–2.18)	0.43

2.3. *APOLI* e Glomeruloesclerose Segmentar e Focal e Nefropatia do HIV

A Glomeruloesclerose Segmentar e Focal (GESF) é uma condição de lesão glomerular que tem diferentes etiologias; é definida pela presença de aumento da matriz mesangial e esclerose segmentar no glomérulo, acometendo alguns glomérulos no rim. A GESF pode ser uma doença primária ou idiopática, ou ser secundária a outras doenças, incluindo obesidade, infecção pelo HIV, nefropatia de refluxo, hipertensão arterial sistêmica grave ou redução de massa renal²³. A GESF é uma das causas de DRCT, sendo atualmente o tipo de doença glomerular primária mais prevalente como fator etiológico de DRCT²⁹. O *APOLI* com os alelos de alto risco G1/G2 induz efeitos adversos nos podócitos glomerulares, reduzindo a sua densidade e induzindo fusão e achatamento podocitário, além de estresse glomerular. Ocorre redução do número de néfrons com aumento compensatório do tamanho do glomérulo, associado a maior pressão e fluxo nos capilares glomerulares, o que contribui para a injúria e a senescência glomerular^{9,30}. Também ocorrem alterações no citoesqueleto de actina reduzindo a sua função fisiológica, com ruptura das funções do podócito, colapso do tubo glomerular e consequentemente GESF¹².

Existe uma disparidade significativa na frequência de GESF entre afro-americanos e euro-descendentes, em que os primeiros apresentam um risco quatro vezes maior de desenvolver GESF comparado aos euro-descendentes. Esse risco também está associado ao gene *APOLI*, sendo que o alelo G1 estava presente em 52% dos pacientes com GESF (e 18% em afro-americanos sem GESF), e G2 presente em 23% e 15% dos casos com e sem GESF, respectivamente¹⁰. A associação dos dois alelos G1/G2 conferiu um risco significativo de GESF, com *odds ratio* (OR) de 10,5 (IC95% 6,0 a 18,4) em relação aos portadores de nenhum ou apenas um alelo, cujo OR foi 1,26 (IC 95% 1,01 a 1,56)¹⁰. Esses achados se confirmaram em outros estudos analisando coortes maiores, como o relatado por Kopp *et al.* em 2011, em que os genótipos do *APOLI* foram determinados em 271 afro-americanos, 168 euro-americanos e 939 controles. Em um modelo recessivo, o genótipo G1/G2 em afro-americanos mostrou OR de 17 (IC 95% 11 a 26) para GESF, e 29 (IC 95% 13 a 68) para GESF associada a HIVAN, além de idade mais precoce de início da doença, sendo 70% entre 15-39 anos (p=0,0003), e progressão mais rápida para DRCT, com mediana de 5 anos para G1/G2 e 13 anos para nenhum ou 1 haplótipo (P<0,01). A nefropatia do HIV, que induz HIVAN na forma de glomerulopatia colapsante, está nitidamente associada com as variantes de risco G1/G2 do *APOLI*. Após o advento da terapia antirretroviral (TARV) houve uma redução significativa da infecção pelo HIVAN, que atualmente afeta 5-10% dos pacientes portadores de HIV e HIVAN, e nitidamente mais prevalente em afrodescendentes. Sem tratamento, 50% dos pacientes afrodescendentes infectados pelo HIV desenvolvem HIVAN, pela interação do genótipo de risco G1/G2¹². Na sua fase crônica, o HIVAN induz mecanismos antivirais que estimulam o interferon-gama, aumentando a expressão de *APOLI* de alto risco no podócito (RNA mensageiro e

proteína), o que se denomina de “*second hit hypothesis*”^{12,31}. Os padrões histológicos das alterações glomerulares e túbulo-intersticiais gerados pelo efeito do *APOL1* são mostradas na Figura 3.

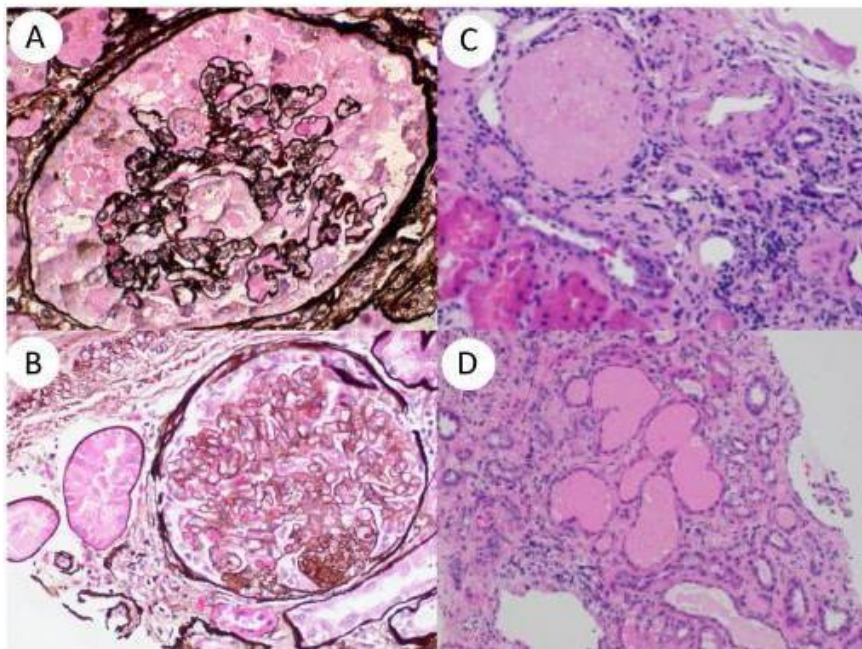


Figura 3: Padrões histológicos da nefropatia induzida pelo *APOL1*. A: glomerulopatia colapsante. B: glomeruloesclerose segmentar e focal. C: glomeruloesclerose global, com desaparecimento do glomérulo obsoleto. D: tireoidização e dilatação microcística dos túbulos renais e atrofia tubular.

No estudo de Kasembeli *et al* foram avaliadas as variantes de *APOL1* em 120 pacientes com HIVAN e DRC e 108 controles na população negra sul-africana. Os resultados mostraram que 79% dos pacientes com HIVAN e 2% dos controles da população tinham as variantes G1/G2. Em um modelo recessivo, os indivíduos portadores de qualquer combinação de dois alelos de risco do *APOL1* tinham probabilidade 89 vezes maior (IC 95%, 18 a 912; $P < 0,001$) de desenvolver HIVAN em comparação com controles HIV-positivos. Esses resultados indicam que negros sul-africanos HIV-positivos, sem terapia antirretroviral e com presença de G1/G2, tem alto risco de desenvolver HIVAN.

A terapêutica de indivíduos com os alelos de risco G1/G2 do *APOL1* é incipiente, entretanto é primordial tratar a doença de base (HAS/DRC, GESF, HIVAN, nefrite lúpica) com anti-hipertensivos, imunossuppressores, TARV e imunomoduladores. Existem poucos estudos avaliando outras alternativas no manejo do risco associado a *APOL1*, mas alguns estão em andamento como o estudo VERTEX, que é um estudo de fase 2a avaliando a eficácia e segurança do VX-147 (molécula que inibe a morte celular induzida pela APOL1) em adultos com GESF e as variantes do *APOL1* de alto risco, e o estudo de Goyal R *et al.*³¹ com o uso de glicocorticóides para inibição da sinalização do Fator nuclear-kB, que induz aumento da APOL1, reduzindo a resposta inflamatória nos podócitos. Estudos do impacto de *APOL1* na

DRC na população brasileira.

Apesar da presença de mais de 120.000 pacientes em diálise no Brasil, com mais de 106 milhões de indivíduos de ascendência africana ou miscigenada, não há estimativas relatadas da frequência de variantes de risco em *APOLI*, conforme observado nos Estados Unidos¹¹. Nos últimos anos foram identificados na literatura científica brasileira, apenas sete artigos que tratam da presença das variantes genéticas da *APOLI* (os quais serão detalhados no artigo 1 desta tese). A maioria destes estudos demonstraram maior risco de afrodescendentes desenvolverem a DRC em idade mais precoce e de iniciar hemodiálise mais cedo quando as variantes de risco G1/G2 estão presentes.^{32,33,34} No entanto, os estudos têm tamanho amostral limitados e avaliam pacientes das regiões Norte e Sudeste do Brasil, sendo que a população negra do Rio Grande do Sul não tinha sido ainda investigada.

O Brasil, por ter apresentado na sua colonização várias correntes migratórias, é um país etnicamente diferente até quando comparado a outros países da América Latina³⁵. A ancestralidade africana é bastante difundida no país como um todo, exceto no sul, onde também a ancestralidade europeia é generalizada³⁵. Só é possível entender a ancestralidade e complexidade da miscigenação do povo brasileiro à luz da revisão dos processos históricos de organização do país.

O Brasil foi o maior território escravista do hemisfério ocidental e por quase três séculos e meio recebeu, sozinho, quase 5 milhões de africanos cativos, totalizando 40% do total de 12,5 milhões embarcados para a América³⁶. A chegada de cativos africanos ao Brasil iniciou-se no século XV, por volta de 1553, por meio do tráfico transatlântico de homens e mulheres negras que foram escravizados, com objetivo de sustentar a expansão colonial. Trabalharam forçadamente em engenhos e lavouras de cana-de-açúcar. Além disso, como principal medida de controle psíquico, foram destituídos de seus laços e vínculos familiares, linguístico, cultural e religioso³⁷. O tráfico dos homens e mulheres negros era realizado através de navios negreiros, e muitos africanos morriam no trajeto devido às más condições das instalações, a privação alimentar e a violência nesse traslado. Os africanos escravizados traficados para o Brasil seguiram a seguinte ordem: partindo de Moçambique, Angola, Congo e Costa da África Central para a Bahia; partindo de Golfo do Benim, Costa da Namíbia e Senegâmbia para Pernambuco e Maranhão; partindo de Moçambique para o Sudeste do Brasil. (Rio de Janeiro e São Paulo)^{36,38} (Figura 4). Este processo não ocorreu sem resistência; os quilombos constituíram umas das principais estratégias de organização e oposição ao sistema escravocrata³⁷.

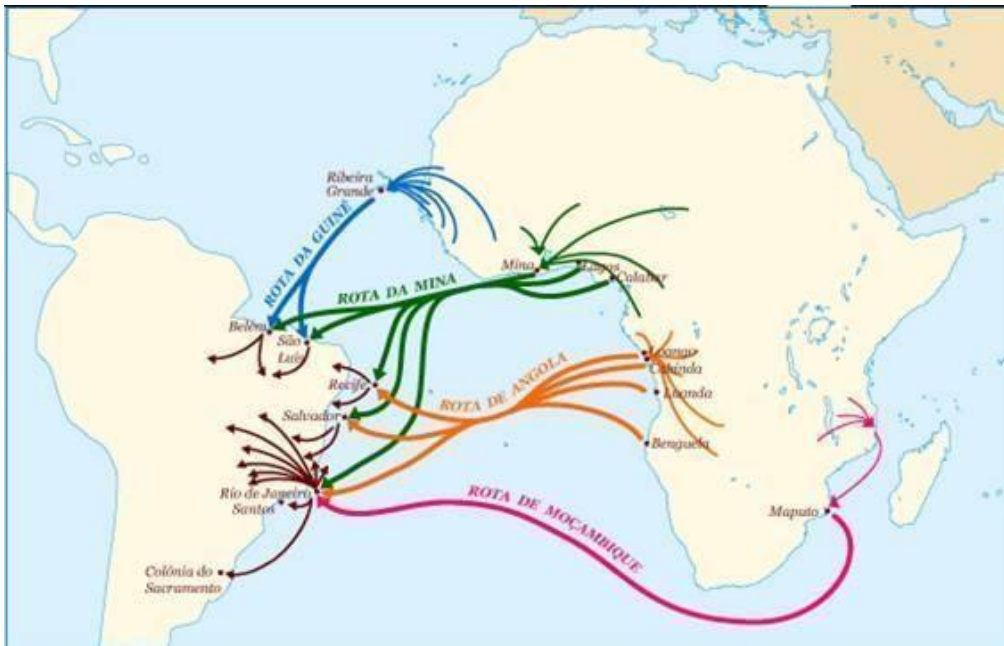


Figura 4. Representação do fluxo de africanos procedente da África para o Brasil. (Adaptado de Geledés - *por David Eltis, no Slave Voyages*).

Essa foi a experiência mais determinante na história brasileira, com impacto profundo na cultura e no sistema político que deu origem ao país depois da Independência em 1822^{16,36,39}. A abolição oficial da escravidão ocorreu somente em 1888, durante o Brasil Império (1822-1889), tendo a população negra no Brasil vivido por mais de três séculos sob o regime de escravidão. Apesar da abolição e do posterior reconhecimento das graves violações decorrentes da escravização, a população negra continua em grande medida excluída socialmente do acesso a vários bens e serviços¹⁶. A falta de políticas no período pós abolição que incluíssem essa população nos processos produtivos e sociais, assim como o imaginário sobre sua inferioridade, contribuiu para a continuidade da sua marginalização na sociedade brasileira. Ainda hoje, são frequentes as discriminações raciais, associando negras e negros a estereótipos negativos, de subalternidade, que reforçam sua marginalização social, econômica, política e cultural. Vale mencionar que são recentes as políticas de promoção da igualdade racial promovidas pelo estado brasileiro^{16,39}.

O racismo é um determinante social da saúde, visto que a saúde e o adoecimento estão relacionados a uma série de fatores socioeconômicos e culturais que afetam a integridade física e psicológica, individual e coletiva. As condições históricas de inserção social, somadas às condições de moradia, renda, saúde e localização também são fortemente associadas ao racismo na população negra. A classificação da cor da população é realizada por ocasião do recenseamento, e permite que cada um responda de acordo com cinco categorias: branco, preto, pardo, amarelo e indígena¹⁵. Na Pesquisa

Nacional por Amostra de Domicílios Contínua 2012-2019, apresentam-se os dados percentuais da população branca e negra³ do Brasil (46,6% branca e 56,2% negra) e também por regiões, considerando 2019: região Norte: 19,1% branca e 79,5% negra; região Nordeste 24,7% branca e 74,4% negra; região Sudeste: 50,5% branca e 48,9% negra; região Sul 73,2% branca e 25,9% negra; e região Centro-Oeste 36,2% branca e 62,6% negra. (IBGE, Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua 2012-2019)¹⁵. A diferença da presença da população negra nos estados do Sul para o restante dos estados deve-se à migração dos africanos para as outras regiões^{40,41}. Após a abolição da escravidão, houve um interesse de cunho racista do governo brasileiro em realizar uma ação para branqueamento da população brasileira, o que resultou em uma lei de estímulo para os imigrantes europeus se assentarem no país, excetuando os asiáticos e africanos lei nº 28, do estado de São Paulo⁴².

O Ministério da Saúde³⁹ compreende que situações de desigualdades e vulnerabilidades afetam a saúde da população negra, como a precocidade dos óbitos, altas taxas de mortalidade materna e infantil, maior prevalência de doenças crônicas e infecciosas e altos índices de violência, e reconhece que o racismo vivenciado pela população negra incide negativamente nestes indicadores, comprometendo o acesso dessa população aos serviços públicos de saúde. Assim, torna-se fundamental investigar condições específicas da população afro-brasileira a fim de diminuir o impacto dessas condições nessa população negligenciada.

2. MARCO CONCEITUAL

A DRC, segundo a última revisão do *Kidney Diseases Improving Global Outcomes* (KDIGO) de 2012⁷, é a presença de dano renal ou diminuição da função renal por três ou mais meses, com implicações para a saúde. Os estágios da DRC são classificadas em estágios de acordo com o nível da taxa de filtração glomerular estimada (TFGe): 1: >90 ml/min /1,73 m²; 2: 60-89 ml/min/1,73 m²; 3a: 45-59 ml/min/1,73 m²; 3b: 30-44 ml/min/1,73 m²; 4: 15-29 ml/min/1,73 m²; 5: <15 ml/min/1,73 m². A DRC secundária à Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é mais comum nos afro-americanos do que na população em geral; já o diabetes mellitus constitui a principal etiologia da doença renal crônica, sendo que cerca de 90% dos pacientes com doença renal do diabetes apresentam HAS⁸. Em 2010, pesquisadores realizaram mapeamento genético em afro-americanos, identificando em 13% deles a região genômica *APOLI*, como responsáveis por estas diferenças na maior prevalência. O Brasil foi o maior território escravista do hemisfério ocidental por quase três séculos e meio. Recebeu, sozinho, quase 5 milhões de africanos cativos, o que corresponde a 40% do total de 12,5 milhões embarcados para a América (Gomes pág. 25). Os séculos de escravidão da população negra influenciaram

negativamente na inserção dessa população na sociedade brasileira, contribuindo para um desigual e desfavorável acesso a direitos e oportunidades, em especial na saúde (MS pág. 14). Já que os estudos nos apontam para esta disparidade da DRC na população negra em comparação com a população branca, a realização e interpretação da genotipagem do *APOL1* passa a ser uma ferramenta útil para predição de risco de diferentes nefropatias nesta população, além de estabelecimento de estratégias de manejo específicas para a população negra. Considerando que existem poucos estudos no Brasil, e inexistentes na região sul, fica clara a importância de investigar nesta população a relação das variantes de risco da *APOL1* na DRC.

Neste contexto, buscamos determinar a prevalência do genótipo de alto risco G1+G2 do gene da *APOL1* (combinados) e genótipos de baixo risco (G1 ou G2 isolados, ou nenhum dos dois) em pacientes afro-descendentes portadores de doença renal crônica (DRC) associada a hipertensão arterial sistêmica ou glomeruloesclerose segmentar e focal esporádica ou familiar comparado a indivíduos afrodescendentes saudáveis, nos centros de Nefrologia das cidades de Porto Alegre, Viamão, Cachoeirinha, Gravataí, Pelotas e Osório.

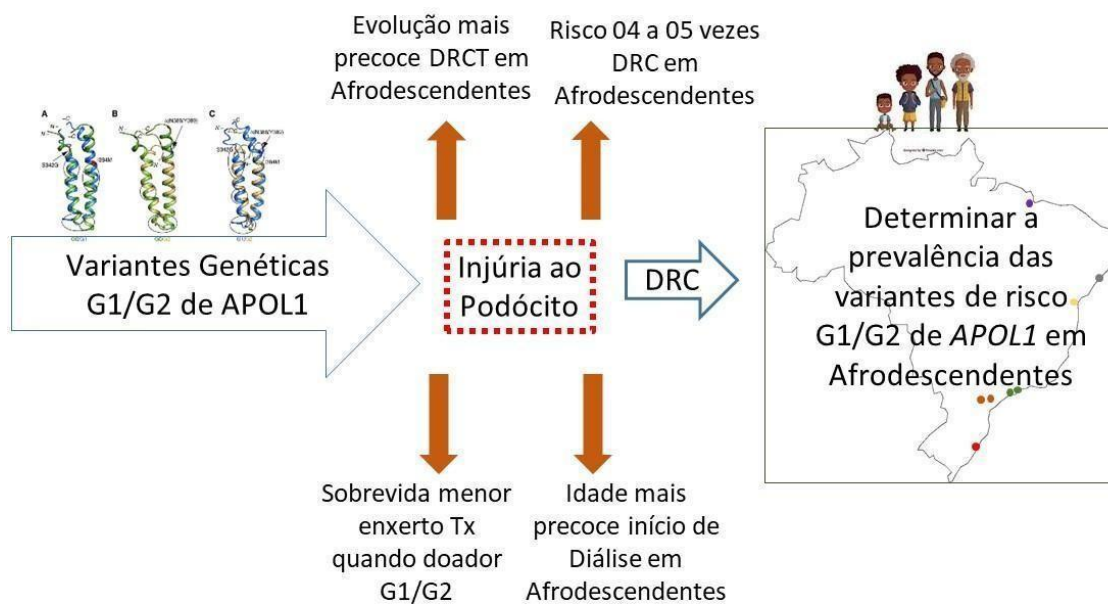


Figura 5. Representação esquemática do marco conceitual do estudo. Esse esquema foi elaborado com o objetivo de apresentar a base teórica que sustenta a investigação da pesquisa

3. JUSTIFICATIVA

Afrodescendentes apresentam uma probabilidade maior do que a população em geral de desenvolverem DRC na presença das variantes de risco G1/G2 da *APOLI*. Aliado a isso, as condições de acesso aos serviços de saúde, a falta de condições sócio econômicas e o racismo estrutural como determinante de saúde, tornam-se fatores importantes para o desenvolvimento deste estudo. Com base em dados recentes da literatura, sugeriu-se a testagem genética para *APOLI* em afro-brasileiros na prática clínica, com o objetivo de se determinar o grau de risco de desenvolvimento de nefropatias, tornando-se necessário um melhor delineamento desse modelo genético. A correta interpretação da genotipagem da *APOLI*, ferramenta útil para predição de risco de diferentes nefropatias, torna-se crítica para que se adote estratégias de manejo clínico, prevenção de progressão e redução de risco para afro-descendentes, quando do planejamento de saúde pública para essa população de risco.

Foram identificados na literatura científica brasileira poucos estudos que tenham determinado a prevalência dos alelos de risco de *APOLI* brasileiros, em especial no sul, e sua associação com risco de GESF, e DRCT associada a hipertensão arterial. Assim, torna-se primordial a avaliação do risco associado a *APOLI* em pacientes brasileiros. Com esses dados, será possível estimar no nosso meio o risco associado às variantes G1+G2 para a ocorrência e progressão de DRC, auxiliando estratégias de manejo e ações de saúde pública para a população afrodescendente.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo primário

Determinar a prevalência dos alelos e genótipos de *APOLI* em pacientes afro-descendentes portadores de doença renal crônica (DRC) associada à hipertensão arterial sistêmica ou glomeruloesclerose segmentar e focal comparado a indivíduos afrodescendentes saudáveis.

4.2 Objetivos secundários

- Revisar a literatura sobre o impacto da presença dos alelos de risco em *APOLI*, com foco em estudos da população brasileira.

- Caracterizar o perfil clínico e demográfico de pacientes com DRC, relacionando as variáveis com a presença dos alelos de risco.

- Estabelecer a prevalência dos alelos de risco G1 e G2, comparando a presença em indivíduos com DRC e indivíduos sem DRC.

- Determinar o risco de DRC atribuída à nefrosclerose hipertensiva e glomeruloesclerose segmentar e focal primária a partir da presença do genótipo de alto risco G1+G2 do gene da *APOLI*.

- Determinar a ancestralidade global da amostra através de marcadores genéticos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A doença renal crônica (DRC) é um problema de saúde pública em todo o mundo e um dos exemplos mais vívidos das disparidades raciais e étnicas do sistema de saúde dos EUA. Vários fatores históricos, culturais e o racismo estrutural explicam tais disparidades. No entanto, a presença de fatores biológicos na população negra com DRC tem sido extensamente discutida desde o mapeamento genético das variantes de risco G1/G2 da Apolipoproteína L1 desde em 2010. Os riscos associados a essas variantes são extremamente altos, chegando em alguns estudos a razão de chances tão altas quanto 89 para pacientes portadores da variantes com DRC com HIV. Alguns estudos sugerem um padrão de herança próximo ao recessivo. Apesar do impacto dos alelos de *APOLI*, da alta prevalência de DRC na população e da maioria da população brasileira ser negra, um número muito limitado de estudos no Brasil com esta temática e recorte racial têm sido conduzidos. Este é mais um dado que demonstra o racismo estrutural.

O Brasil foi o maior país escravocrata do continente e o último país a abolir a escravidão em 1888. Estes quase 400 anos de escravidão, solidificaram o racismo, trouxeram agravos em todas as esferas para a população afrodescendentes em especial aqui destaco a saúde, os quais já são reconhecidos pelo Ministério da Saúde em 2006 como resultado do racismo.

Realizar um estudo avaliando a prevalência dos alelos de risco G1/G2 da *APOLI* para DRC em afrodescendentes do Rio Grande do Sul, analisando a ancestralidade, confirmando a presença do alto risco, vem reforçar a necessidade de direcionar ações específicas para a prevenção da doença renal crônica nessa população, utilizando estratégia de medicina de precisão.

A realização deste estudo pode se dizer que foi “uma ação afirmativa”, visto que temos argumento científico para pressionar os gestores públicos no direcionamento de esforços para o fortalecimento de políticas públicas que deem conta dos prejuízos que causam a Doença Renal Crônica nos afrodescendentes, em especial aqueles portadores de alelos de risco. Mais estudos com recorte étnico racial associados à doença renal crônica são necessários para colaborar em um melhor entendimento e possibilidades de ações diagnósticas e terapêuticas voltados à população negra

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Este estudo deu origem a uma linha de pesquisa sobre genômica da DRC e genômica na população negra brasileira. Embora uma série de estudos tenham a perspectiva de serem realizados a partir da conclusão deste doutorado, no escopo deste trabalho, principalmente estão previstas antes da publicação do artigo 2:

2. Concluir a gentotipagens das 17 amostras que não foram encaminhadas para sequenciamento completo do genoma.
3. Avaliar o risco dos alelos G1 e G2 separadamente para DRC ocasionada por HAS e ocasionada por GESF.
4. Analisar o tempo até diálise comparando com a presença dos alelos de risco.
5. Realizar análises de ancestralidade local.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cirillo M, Lombardi C, Mele AA, Marcarelli F, Bilancio G. A population-based approach for the definition of chronic kidney disease: the CKD Prognosis Consortium. *J Nephrol*. 2012;25:7-12.
2. Neves, Precil miranda de Menezes et al (2021): Brazilian dialysis survey 2019 in: *Brazilian Journal Nephrology* 43.Nº.2, pp 217-227
3. Kidney International Supplements. *Kidney Diseases Improving Global Outcomes (KDIGO)* 2012. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease.
4. Polito MG, De Moura LAR, Kirsztajn GM. An overview on frequency of renal biopsy diagnosis in Brazil: clinical and pathological patterns based on 9617 native kidney biopsies. *Nephrol Dial Transplant*. 2009; 25(2):490-496.
5. Bethesda M. United States Renal Data System (USRDS) annual data report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. United States Renal Data System (USRDS). 2015; 010(2):01-03.
6. Tareen N, Zadshir A, Martins D, Pan D, Nicholas S, Norris K. Chronic kidney disease in African American and Mexican American populations. *Kidney Int Suppl*. 2005; 97:S137-140.
7. Moura LD, Prestes IV, Duncan BB, Thome FS, Schmidt MI. Dialysis for end stage renal disease financed through the Brazilian National Health System, 2000 to 2012. *BMC Nephrol*. 2014;15:1-6.
- 8 Kao WH, Klag MJ, Meoni LA, Reich D, Berthier-Schaad Y, Li M, et al. MYH9 is associated with nondiabetic end-stage renal disease in African Americans. *Nat Genet*. 2008; 40(10):1185-1192.
9. Kopp JB, Smith MW, Nelson GW, Johnson RC, Freedman BI, Bowden DW, et al. MYH9 is a major-effect risk gene for focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet*. 2008; 40(10):1175-1184.
10. Genovese G, Friedman DJ, Ross MD, Lecordier L, Uzureau P, Freedman BI, et al. Association of trypanolytic ApoL1 variants with kidney disease in African Americans. *Science*. 2010; 329(5993):841-845.
11. Riella C, Siemens T, Wang M, Campos R, de Moaraes T, Riella L, et al. *APOLI*-Associated Kidney Disease in Brazil. *Kidney Int Rep*. 2019; 4(7):923-929.
- 12 Siemens TA, Riella MC, Moraes TP, Riella CV. *APOLI* risk variants and Kidney disease: what we know so far. *Braz J Nephrol* 2018; 40(4):388-402.
13. Sumaili EK, Shemer R, Kruzel-Davila E, Cohen EP, Mutantu PN, Bukabau JB, et al. G1 is the major *APOLI* risk allele for hypertension attributed nephropathy in Central Africa *Clinical Kidney Journal*. *Clin Kidney J*. 2018; 12(2):188–195.
14. Naslavsky MS, Yamamoto GL, de Almeida TF, Ezquina SA, Sunaga DY, Pho N.

Exomic variants of an elderly cohort of Brazilians in the ABraOM database. *Hum Mutat.* 2017; 38(7):751-63.

15. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2019): “Desigualdades Sociais por Cor ou Raça no Brasil”. https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101681_informativo.pdf. Accessed in: 24. Feb. 2022.
16. Brasil (2016): Painel de Indicadores do SUS N°10: Temático da Saúde da População Negra.v.7, n., Brasília: Ministério da Saúde.
17. Friedman DJ, Pollak MR. Apolipoprotein L1 and Kidney Disease in African Americans. *Trends Endocrinol Metab.* 2016; 27(4):204-215.
18. Vanhollebeke B, Pays E. The trypanolytic factor of human serum: many ways to enter the parasite, a single way to kill. *Mol Microbiol.* 2010; 76(4):806-814.
19. Namangala B. Contribution of innate immune responses toward resistance to african trypanosome infections. *Scand J Immunol;* 2012;75(1):5-15.
20. Wan G, Zhaorigetu S, Liu Z, Kaini R, Jiang Z, Hu CA. Apolipoprotein L1, a novel Bcl-2 homology domain 3-only lipid-binding protein, induces autophagic cell death. *J Biol Chem.* 2008; 283(31):21540-21549.
21. Monajemi H, Fontijn RD, Pannekoek H, Horrevoets AJG. The Apolipoprotein L Gene Cluster has Emerged Recently in Evolutions and is Expressed in Human Vascular Tissue. *Genomics* 2002; 79(4); 539-46.
22. Heymann J, Kopp JB. Impact of *APOLI* kidney risk variants on glomerular transcriptomes. *Kidney Int,* 2022; 102(Issue 1):16-19.
23. Genovese G, Friedman DJ, Ross MD, Lecordier L, Uzureau P, Freedman BI, et al. Association of trypanolytic ApoL1 variants with kidney disease in African Americans. *Science.* 2010; 329(5993):841-845.
24. Freedman BI, Limou S, Ma L, Kopp JB. *APOLI*-Associated Nephropathy: A Key Contributor to Racial Disparities in CKD. *Am J Kidney Dis.* 2018; 72(5 Suppl1): S8-S16. Vanhollebeke B, Pays E. The trypanolytic factor of human serum: many ways to enter the parasite, a single way to kill. *Mol Microbiol.* 2010; 76(4):806-814.
25. Kruzel-D'ávila E, Shemer R, Ofir A, Bavli-Kertselli I, Darlyuk-Saadon I, Oren-Giladi P, et al. *APOLI*-Mediated Cell Injury Involves Disruption of Conserved Trafficking Processes. *J Am Soc Nephrol.* 2017; 28(4):1117-1130.
26. Saran R, Li Y, Robinson B, Abbott KC, Agooa LYC, Ayanian J, et al. US Renal Data

System. US Renal Data System 2015 Annual Data Report: epidemiology of kidney disease in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2016; 67(3 suppl 1): S1-S305.

27. Parsa A, Kao WHL, Xie D, Astor B, Li M, Hsu CY, et al. *APOLI* risk variants, race, and progression of chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2013; 369(23): 2183-2196.

28. Polito MG, De Moura LAR, Kirsztajn GM. An overview on frequency of renal biopsy diagnosis in Brazil: clinical and pathological patterns based on 9617 native kidney biopsies. *Nephrol Dial Transplant.* 2009; 25(2):490-496.

29. Beckerman P, Karchin JB, Park ASD, Oiu C, Dummer PD, Soomro I, et al. Transgenic expression of human *APOLI* risk variants in podocytes induces kidney disease in mice. *Nat Med* 2017; 23(4):429-438.

30. Goyal R, Singhal PC. *APOLI* risk variants and the development of HIV-associated nephropathy. *FEBS J.* 2021; 288(19): 5586-55 97.

31. Vajgel G, Lima SC, Santana DJS, Oliveira CBL, Costa DMN, Hicks PJ, et al. Effect of a Single Apolipoprotein L1 Gene Nephropathy Variant on the Risk of Advanced Lupus Nephritis in Brazilians. *J Rheumatol.* 2020; 47(8):1209–17.

33.. Colares VS, Titan SM de O, Pereira A da C, Malafronte P, Cardena MM, Santos S, et al. MYH9 and *APOLI* gene polymorphisms and the risk of CKD in patients with lupus nephritis from an admixture population. *PloS One.* 2014;9(3):e87716.

34. Watanabe A, Guaragna MS, Santoro VM et al. *APOLI* in an ethnically diverse pediatric population with nephrotic syndrome: implications in focal segmental glomerulosclerosis and other diagnoses. *Pediatr Nephrol,* 2021; 36:2327–2336.

35 Ruiz-Linares A, Adhikari K, Acuña-Alonzo V, Quinto-Sanchez M, Jaramillo C, Arias W, et al. Admixture in Latin America: Geographic Structure, Phenotypic Diversity and Self- Perception of Ancestry Based on 7,342 Individuals. *PLOS Genetics.* 2014; 10(9):e1004572.

36. Gomes L. *Escravidão: Do primeiro leilão de cativos em Portugal até a morte de Zumbi dos Palmares.* Rio de Janeiro: Globo S.A; 2019. p. 24-31.

37. Munanga, K. (2004). “Rediscutindo a mestiçagem no Brasil: identidade nacional versus identidade negra”. Belo Horizonte: Autêntica Editora. p. 127.

38. Geledés - Instituto da mulher negra <https://www.geledes.org.br>, consultado em setembro de 2022.

39. Brasil (2017): “Política Nacional de Saúde Integral da População Negra”. Ministério da Saúde. 3ª edição. 2017.

https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_saude_populacao_negra_3d.p df.

Acesso 15 setembro de 2022.

40. Pena, S. (2008). “Humanidade sem raças?” 1ª edição. São Paulo: Editora Publi folha. pp. 12-14.
41. Assembléia Legislativa do Estado de São Paulo-Lei nº 28-29 de março de 1884, <http://www.al.sp.gov.br-acesso dezembro 2022>.
42. Pena, S.D.J, Birchall, T.S. A inexistência biológica versus a existência social de raças humanas: pode a ciência instruir o etos social. Revista USP, São Paulo, n. 68, pp. 10-21, 2005/2006. Disponível em <http://twixar.me/B6LK>. Acessado 15 Setembro de 2022.
43. Norris KC, Williams SF, Rhee CM, Nicholas SB, Kovesdy CP, Kalantar-Zadeh K, et al. Hemodialysis disparities in African Americans: the deeply integrated concept of race in the social fabric of our society. *Semin Dial.* 2017; 30(3):213-223.
44. Kasembeli AN, Duarte R, Ramsay M, Mosiane P, Dickens C, Dix-Peek T, et al. *APOLI* Risk Variants Are Strongly Associated with HIV-Associated Nephropathy in Black South Africans. *J Am Soc Nephrol.* 2015; 26 (11):2882-2890.
45. Sesso Rc, Lopes AA, Thomé FS, et al. Brazilian Chronic Dialysis Survey 2016. *J Bras Nefrol.* 2017; 39(3):261

8. ANEXOS E/OU APÊNDICES

ANEXO I

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (CASOS)

Título: **PREVALÊNCIA DO GENÓTIPO DE RISCO G1/G2 DO GENE DA APOLIPOPROTEÍNA L1 (*APOLI*) E ASSOCIAÇÃO COM DOENÇA RENAL CRÔNICA NÃO DIABÉTICA EM AFROBRASILEIROS NO SUL DO BRASIL**

Orientador: Francisco José Veríssimo Veronese

Orientanda: Célia Mariana Barbosa de Souza

O Sr. (Sra.) está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é determinar a prevalência de duas mutações genéticas associadas ao gene *APOLI*. Está demonstrado que os portadores dessas mutações podem ter risco elevado de desenvolver o estágio final da Doença Renal Crônica e de uma doença renal denominada Glomeruloesclerose Segmentar e Focal, assim esgotando a função dos rins. Estas alterações genéticas justificam, pelo menos em parte, o risco aumentado da Doença Renal Crônica em negros. Pelo fato do Sr. (Sra.) ser portador de uma destas condições que afetam a sua saúde, o Sr. (Sra.) está sendo convidado(a) para participar desta pesquisa.

Serão realizadas entrevistas com os participantes em estudo, revisando prontuário médico e será feita coleta de sangue venoso periférico. Os resultados serão utilizados apenas para fins científicos e estarão à sua disposição sempre que solicitado. Resultados alterados decorrentes destes exames nos indivíduos saudáveis estes serão encaminhados para acompanhamento médico no Serviço de Medicina Ocupacional (SMO) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). O Sr. (Sra.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são: a coleta do sangue poderá causar um pequeno desconforto no braço, manchas azuladas na pele (chamadas equimoses ou hematomas), e muito raramente infecções no local da punção. Você pode conversar com a equipe de pesquisa para maiores esclarecimentos sobre esses possíveis riscos.

Quanto aos benefícios, esperamos que este estudo traga informações importantes da investigação da associação da doença renal crônica com as variantes do gene *APOLI* na população brasileira, especificamente no sul do Brasil. Até então, nenhum estudo sobre o tema na população brasileira foi realizado. Desta forma, o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa

poderá auxiliar nos protocolos de atendimento de pacientes com doença renal crônica e glomeruloesclerose segmentar e focal.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável, Dr. Francisco Veronese, pelo telefone (51) 99969-3920 ou com a pesquisadora Célia Souza, pelo telefone (51) 99246-7548, ou ainda com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 3359-6246, ou 5º andar do Bloco C HCPA Protásio Alves 211, sala 5046, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Minha participação neste estudo será voluntária e poderei interrompê-la a qualquer momento se eu assim o desejar, sem que isso me traga prejuízo algum ao meu atendimento. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do pesquisador. Se necessário, poderá entrar em contato com a Comissão de Ética do HCPA.

Estou ciente que a minha identidade permanecerá confidencial durante todas as etapas do estudo. Sendo que os resultados serão transcritos e analisados com responsabilidade e honestidade e usados exclusivamente para fins científicos.

CONSENTIMENTO: Pelo presente consentimento informado, declaro que foi esclarecido(a), de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, dos objetivos, da justificativa e benefícios da presente pesquisa. Os pesquisadores responderam todas as minhas perguntas até a minha completa satisfação. Portanto, estou de acordo em participar do estudo. Este formulário de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será assinado por mim, em duas vias, ficando uma em meu poder e a outra com o pesquisador responsável pela pesquisa.

Nome do participante da pesquisa (ou responsável)

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

ANEXO II

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (CONTROLES)

Título: PREVALÊNCIA DO GENÓTIPO DE RISCO G1/G2 DO GENE DA APOLIPOPROTEÍNA L1 (*APOL1*) E ASSOCIAÇÃO COM DOENÇA RENAL CRÔNICA NÃO DIABÉTICA EM AFROBRASILEIROS NO SUL DO BRASIL

Orientador: Francisco José Veríssimo Veronese

Orientanda: Célia Mariana Barbosa de Souza

O Sr. (Sra.) está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é determinar a prevalência de duas mutações genéticas associadas ao gene *APOL1*. Está demonstrado que os portadores dessas mutações podem ter risco elevado de desenvolver o estágio final da Doença Renal Crônica e de uma doença renal denominada Glomeruloesclerose Segmentar e Focal, assim esgotando a função dos rins. Estas alterações genéticas justificam, pelo menos em parte, o risco aumentado da Doença Renal Crônica em negros.

Serão realizadas entrevistas com os participantes em estudo, revisando prontuário médico e será feita coleta de sangue venoso periférico. Os resultados serão utilizados apenas para fins científicos e estarão à sua disposição sempre que solicitado. Resultados alterados decorrentes destes exames nos indivíduos saudáveis estes serão encaminhados para acompanhamento médico no Serviço de Medicina Ocupacional (SMO) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). O Sr. (Sra.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são: a coleta do sangue poderá causar um pequeno desconforto no braço, manchas azuladas na pele (chamadas equimoses ou hematomas), e muito raramente infecções no local da punção. Você pode conversar com a equipe de pesquisa para maiores esclarecimentos sobre esses possíveis riscos.

Quanto aos benefícios, esperamos que este estudo traga informações importantes da investigação da associação da doença renal crônica com as variantes do gene *APOL1* na população brasileira, especificamente no sul do Brasil. Até então, nenhum estudo sobre o tema na população brasileira foi realizado. Desta forma, o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa poderá auxiliar nos protocolos de atendimento de pacientes com doença renal crônica e glomeruloesclerose segmentar e focal.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável, Dr. Francisco Veronese, pelo telefone (51) 99969-3920 ou com a pesquisadora Célia Souza, pelo telefone (51) 99246-7548, ou ainda com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas

de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 3359-6246, 5º andar do Bloco C HCPA Protásio Alves 211, sala 5046, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Minha participação neste estudo será voluntária e poderei interrompê-la a qualquer momento se eu assim o desejar, sem que isso me traga prejuízo algum ao meu atendimento. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do pesquisador. Se necessário, poderá entrar em contato com a Comissão de Ética do HCPA.

Estou ciente que a minha identidade permanecerá confidencial durante todas as etapas do estudo. Sendo que os resultados serão transcritos e analisados com responsabilidade e honestidade e usados exclusivamente para fins científicos.

CONSENTIMENTO: Pelo presente consentimento informado, declaro que foi esclarecido(a), de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, dos objetivos, da justificativa e benefícios da presente pesquisa. Os pesquisadores responderam todas as minhas perguntas até a minha completa satisfação. Portanto, estou de acordo em participar do estudo. Este formulário de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será assinado por mim, em duas vias, ficando uma em meu poder e a outra com o pesquisador responsável pela pesquisa.

Nome do participante da pesquisa (ou responsável)

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

ANEXO III
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO N° do projeto

GPPG ou CAAE 36976820.5.0000.5327

Título do Projeto: Análises genômicas em autodeclarados negros do RS e associação com
Doença Renal Crônica não diabética

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa porque já participou de um projeto anterior do nosso grupo intitulado “Prevalência do Genótipo de Risco G1/G2 do gene da Apolipoproteína L1 (*APOLI1*) e Associação com Doença Renal Crônica (DRC) não Diabética em Afro-brasileiros”. Na pesquisa que você já participa nós avaliamos o impacto de variantes genéticas específicas no desenvolvimento da doença renal crônica em pessoas que têm e em pessoas que não têm essa doença. Neste novo projeto, nós avaliaremos o conjunto do material genético (DNA) para tentar identificar fatores genéticos que predispõem a DRC, não apenas partes específicas, como no projeto anterior. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Laboratório de Medicina Genômica e Serviço de Nefrologia do HCPA.

Se você concordar com a participação nesta nova pesquisa, nós usaremos a amostra de DNA (material genético) e as informações clínicas já coletadas no projeto anterior e que estão armazenadas no nosso laboratório de pesquisa. Essas informações são informações demográficas (sexo, idade, local de residência) e de saúde (peso, altura, doenças existentes, exames de laboratório como glicose, colesterol, triglicerídeos, e outros como relacionados ao funcionamento dos rins, etc.). A amostra de DNA será estudada através de sequenciamento e a análise de todo o seu DNA (exame chamado genoma completo). O sequenciamento do genoma é uma técnica que permite que se conheça todo o DNA da pessoa, ou seja, do material genético completo. Essa técnica de sequenciamento será realizada pelo Projeto Genoma de Referência do Brasileiro. Essa iniciativa avaliará genomas de milhares de brasileiros de diferentes regiões e etnias para entender quais são os fatores genéticos que predispõem as principais doenças que acometem a nossa população. Atualmente, de uma maneira geral, conhecemos pouco sobre quais alterações no genoma levam a doenças. Porém, comparando seu DNA e seus dados de saúde com os de outras pessoas podemos identificar padrões e entender melhor quais genes e variações genéticas afetam a saúde. Assim, o objetivo do Projeto Genoma de Referência do Brasileiro é conhecer as variações genéticas presentes na população brasileira, e identificar aquelas associadas a diferentes características da saúde.

Nesta nova etapa da pesquisa nós vamos comparar o material genético de pessoas com doença renal crônica com pessoas que não têm essa doença. Além disso, a sua informação genética e informações de saúde já coletadas no projeto anterior serão agrupadas com as informações de demais brasileiros participantes do Projeto Genoma de Referência do Brasileiro em um grande banco de dados. Quaisquer dados que possam identificá-lo serão mantidos no banco de dados de acesso controlado, apenas com poucas pessoas. Já os seus dados genômicos e os dados de saúde compartilhados com o Projeto Genoma de Referência do Brasileiro ficarão depositados em uma Plataforma do Projeto, um banco de dados gerenciado pelo Ministério da Saúde. Para usar os dados que você e outros participantes fornecerem, pesquisadores deverão ter autorização do Comitê de Pesquisa do Projeto Genoma de Referência do Brasileiro. Os dados poderão ser compartilhados on-line com pesquisadores de todo o mundo que obtiverem permissão de acesso. Esses dados genéticos serão utilizados em pesquisas relacionadas ou não à doença renal crônica e é importante ressaltar que seu nome não fará parte de qualquer publicação ou dentro desses bancos de dados. Os resultados do estudo, incluindo os dados de todos os participantes, porém, sem identificação, também serão apresentados em conferências e em publicações científicas.

Ao decidir participar, você concordará que (1) o seu genoma/DNA completo seja sequenciado e os dados sejam depositados no banco de dados do Projeto Genoma de Referência do Brasileiro; e

(2) parte de seus dados de saúde coletados no projeto que você já faz parte sejam compartilhados com o Projeto Genoma de Referência e depositados no banco de dados do Projeto, de maneira desidentificada. (3) Com sua permissão, entraremos em contato novamente para convidá-lo a atualizar o questionário, fornecer dados adicionais ou participar de novos projetos de pesquisa de outros pesquisadores. Além disso, talvez seja necessário repetir a coleta de 5ml-10ml (equivalente a uma colher de chá) de seu sangue periférico para extração de DNA para o sequenciamento.

Em relação aos potenciais riscos e desconfortos associados com a participação nesta pesquisa, existe a quebra acidental do anonimato dos dados do participante da pesquisa, entretanto, os pesquisadores responsáveis por esta pesquisa e sua equipe se comprometem em garantir a integridade e não violação dos documentos com informações dos participantes, bem como assegurar a confidencialidade de todos os dados coletados, apresentando os resultados sem identificação dos indivíduos. Conforme foi descrito acima, ao final deste estudo, o material genético fará parte do Projeto Genoma de Referência do Brasileiro, e os dados genéticos serão agrupados com outros indivíduos para compor esse banco de dados. É importante salientar que suas informações de nome, endereço telefone não serão disponibilizadas, apenas dados codificados estarão disponíveis, não sendo possível identificar cada participante individualmente.

Seus dados serão armazenados online, em bancos de dados de acesso controlado. Somente pesquisadores aprovados terão acesso. Os pesquisadores que desejarem ter acesso ao banco de dados deverão se inscrever junto ao Comitê de Pesquisa do Projeto Genoma Brasil de Referência, um colegiado de especialistas definido pelo Ministério da Saúde, que examinará suas credenciais e o plano de segurança de dados. Eles também garantirão que o Projeto de pesquisa proposto seja consistente com o seu consentimento. Essas salvaguardas tornam difícil saber quais informações pessoais vieram de você ou de qualquer outro participante. No entanto, não podemos garantir que você nunca será identificado novamente. Existe ainda um risco relativo à coleta de sangue (se necessária), tais como formação de hematoma (mancha roxa por extravasamento do sangue no local da punção), infecções na pele ou na veia puncionada e punção acidental de outras estruturas vizinhas como artérias e nervos. Porém, caso necessária, a coleta de sangue seguirá rotinas padronizadas e será realizada por pessoal capacitado e treinado para este fim, supervisionados por profissional qualificado que poderá orientá-lo/a no caso de dúvida, ou alguma outra eventualidade.

Os possíveis benefícios pela participação na pesquisa são relacionados à identificação de alguma alteração genética associada a um risco aumentado de resultados desfavoráveis da Doença Renal Crônica. No entanto, você pode não se beneficiar pessoalmente dessa pesquisa, porque a pesquisa provavelmente levará muito tempo para produzir resultados úteis do ponto de vista médico. Mas, as futuras descobertas científicas/médicas resultantes da sua participação no Projeto poderão ajudar outras pessoas no futuro. Provavelmente levará muito tempo para interpretar os dados de todos os participantes com precisão. Você poderá acessar o site do projeto em <http://www.projetoDNABrasil.com.br> para ler sobre o progresso e ver se há algum novo resultado.

Existe ainda a possibilidade de que em seu material genético sejam identificadas variações genéticas de importância para a sua saúde. Algumas variantes genéticas causam doenças que podem ser prevenidas e/ou tratadas, como alguns tipos de câncer e doenças cardiovasculares. Nem todas as pesquisas que utilizarem sua amostra serão capazes de identificar essas variantes genéticas relacionadas à saúde. Para aquelas pesquisas em que for possível identificar essas variantes e ligar essa informação aos seus dados pessoais, você poderá optar por receber ou não os resultados sobre a presença destas variantes genéticas que levam a doenças preveníveis e/ou tratáveis, assim como poderá receber aconselhamento sobre as repercussões individuais e para seus familiares de sangue.

A participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, retirar a autorização após a assinatura desse Termo,

não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que o participante da pesquisa recebe ou possa vir a receber em qualquer instituição vinculada ao estudo. Além disso, caso você deseje retirar a autorização sobre a nossa guarda dos dados genéticos, os quais serão armazenados em bancos de dados, você deverá solicitar tal retirada por escrito e assinar. Essa solicitação pode ser feita a qualquer tempo, sem prejuízo ao participante da pesquisa, com validade a partir da data de comunicação da decisão.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação na pesquisa e não haverá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da pesquisa, o participante receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal. O participante tem o direito à indenização em caso de dano decorrente da participação na pesquisa.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável Dra. Fernanda Sales Luiz Vianna pelo telefone 51-33597661 ou com o pesquisador Dr. José Francisco Veríssimo Veronese pelo telefone 51-33598295. Você também pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). O CEP é um colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) pode ser contatado pelo telefone (51) 33596246 de segunda à sexta, das 8h às 17h; ou pelo e-mail cep@hcpa.edu.br; ou no 5º andar do Bloco C HCPA Protásio Alves 211, sala 5046, Bairro Santa Cecília - CEP: 90035-903, Porto Alegre - RS.

Com relação a pesquisas e contatos futuros:

Aceita que entrem novamente em contato para atualizar seus dados ou participar de novos projetos de pesquisa?

() Sim () Não

Com relação aos resultados genéticos:

Deseja ser contatado caso sejam encontrados em seu material genético resultados de variantes genéticas que possam levar a doenças preveníveis e/ou tratáveis?

() Sim () Não

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e seu responsável e outra para os pesquisadores.

OS: Este Termo pode ser enviado aos participantes por meio eletrônico. Os pesquisadores armazenarão registro eletrônico (arquivo, imagem ou áudio) da concordância em participar do estudo. Sugere-se que os participantes armazenem este arquivo eletrônico (salvar imagem ou arquivo em pdf) ou ainda imprimam este Termo.

Nome do participante da pesquisa:

Nome do responsável

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

ANEXO IV

Ficha de coleta de dados clínicos para casos

DADOS SOCIODEMOGRAFICOS			
NOME:		PRONTUÁRIO:	
Telefone: () ()		Grupo: () Casos/Paciente	
Sexo: () Feminino () Masculino		Idade:	
Profissão:			
Residência:		Bairro:	Cidade:
Renda familiar:		Seguro Saúde: () Sim () Não	
Escolaridade:			
() Analfabeto () Ens. Fundamental Incompleto () Ens. Fundamental Completo () Ens. Médio Incompleto () Ens. Médio Completo () Ens. Superior Incompleto () Ens. Superior Completo () Pós-Graduação			
DADOS CLÍNICOS			
Doenças prévias			
() Não			
() Sim, quais? Há quanto tempo?			
Dados Doença Renal			
Idade de início da doença renal			
Etiologia da doença renal			
Tempo de doença renal			
Idade de início da terapia dialítica			
Tempo entre início da doença renal e diálise			
GESF: resposta ao tratamento imunossupressor	Total () IPC < 0,3	Parcial () IPC = 0,3-3,0	Sem resposta () IPC > 3,0
Medicações em uso e doses			

História familiar de:		
a) doença renal	Não ()	Sim ()
b) diálise/ transplante renal	Não ()	Sim ()
c) HAS	Não ()	Sim ()
Peso (kg)		
Altura (m)		
IMC (Kg/m ²)		
PAS (mmHg) e PAD (mmHg) (média de 3 medidas nas 3 últimas consultas)		
SANGUE	Basal	Atual
	Data: __/__/__	Data: __/__/__
Creatinina (mg/dL)		
TFGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ²)		
Glicose (mg/dL)		
Hemoglobina glicada (%)		
Colesterol Total (mg/dL)		
Colesterol HDL (mg/dL)		
Colesterol LDL (mg/dL)		
Triglicerídeos (mg/dL)		
Albumina (g/dL)		
G1: Variante rs73885319 (S342--G342)		
G1: Variante rs60910145 (I384M)		
G2: Variante rs71785313		
URINA	Basal	Final
	Data: __/__/__	Data: __/__/__
Proteína total (mg/dL) (24 h ou amostra = IPC)		
Albuminúria (mg/dL) (24 h ou amostra)		
Exame qualitativo de urina (Início da atividade da doença)	Basal	Atual
	Data: __/__/__	Data: __/__/__
	Hematúria ()	Hemoglobinúria ()
	Proteinúria (+ a ++++):	
	Cilindros: _____ (tipo)	
BIÓPSIA RENAL	Data: __/__/__	
Porcentagem de fibrose intersticial/atrofia tubular	(%)	
Número de glomérulos globalmente esclerosados	N=	
Porcentagem glomérulos globalmente esclerosados	(%)	
IMUNOHISTOQUÍMICA	Data: __/__/__	
Nível de expressão da APOL1	Leve () Moderada () Intensa ()	
Extensão da expressão da APOL1	Focal () Difusa ()	
Localização tecidual da APOL1 por com partimento	Glomérulos () Túbulos () Interstício ()	
	Vasos ()	

ANEXO V

Ficha de coleta de dados clínicos para controles

DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS			
NOME:		PRONTUÁRIO:	
Telefone: () ()		Grupo: () Controles	
Sexo: () Feminino () Masculino		Idade:	
Profissão:			
Residência:		Bairro:	Cidade:
Renda familiar:		Seguro Saúde: () Sim () Não	
Escolaridade:			
<input type="checkbox"/> Ens. Fundamental Incompleto <input type="checkbox"/> Ens. Fundamental Completo <input type="checkbox"/> Ens. Médio Incompleto <input type="checkbox"/> Ens. Médio Completo <input type="checkbox"/> Ens. Superior Incompleto <input type="checkbox"/> Ens. Superior Completo <input type="checkbox"/> Pós-Graduação			
DADOS CLÍNICOS			
Doenças prévias			
<input type="checkbox"/> Não			
<input type="checkbox"/> Sim, quais? Há quanto tempo?			
Medicações em uso e doses			
História familiar de:			
a) doença renal		Não () Sim ()	
b) diálise/ transplante renal		Não () Sim ()	
c) HAS		Não () Sim ()	
Peso (kg)			
Altura (m)			
IMC (Kg/m ²)			
PAS (mmHg) e PAD (mmHg) (média de 3 medidas nas 3 últimas consultas)			
SANGUE		Data: __/__/__	
Creatinina (mg/dL)			
TFGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ²)			
Glicose (mg/dL)			
URINA		Data: __/__/__	
Albuminúria (mg/dL) (24 h ou amostra)			
Exame qualitativo de urina		Data: __/__/__	
		Hematuria () Hemoglobínúria ()	
		Proteinúria (+ a ++++):	
		Cilindros: _____ (tipo)	

ANEXO VI

UFRGS - HOSPITAL DE
CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
DA UNIVERSIDADE FEDERAL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREVALÊNCIA DO GENÓTIPO DE RISCO G1/G2 DO GENE DA APOLIPROTEÍNA L1 (APOL1) E ASSOCIAÇÃO COM DOENÇA RENAL CRÔNICA NÃO DIABÉTICA EM AFRO-BRASILEIROS

Pesquisador: FRANCISCO JOSÉ VERÍSSIMO VERONESE

Área Temática: Genética Humana;

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 1

CAAE: 69698117.1.0000.5327

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.141.067

Apresentação do Projeto:

Projeto vinculado ao PPG Ciências Médicas em nível doutorado. Estudo de caso-controle. A doença renal crônica (DRC) é um problema de saúde pública em todo o mundo. No Brasil, estima-se que 10% da população tenha a doença. Indivíduos de descendência africana desenvolvem DRC, especialmente doença renal crônica terminal associada à hipertensão arterial sistêmica, em uma taxa 4 a 5 vezes maior que pessoas sem ascendência africana. Estudos recentes mostram que mutações no gene APOL1, localizado no braço longo do cromossomo 22, próximo a região do gene MYH9, parecem ter efeito três vezes maior que MYH9 este em termos de risco para nefropatias, as quais são mais frequentes em indivíduos de ascendência africana. Essas mutações em APOL1 estão presentes em aproximadamente 30% de afro-americanos, mas não é encontrado em indivíduos brancos. Estes estudos demonstraram que afro-americanos com os dois alelos de risco G1 e G2 do gene APOL1 são mais suscetíveis para desenvolver doença renal crônica não diabética do que negros com apenas um ou nenhum alelo de risco. Em afro-americanos portadores de G1+G2, risco para glomeruloesclerose segmentar e focal primária e a nefropatia associada ao vírus HIV é, respectivamente, 17 e 29 vezes maior do que em outros indivíduos; além de que nesse

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim **CEP:** 90.035-903
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3359-7640 **Fax:** (51)3359-7640 **E-mail:** cephcpa@hcpa.edu.br

Continuação do Parecer: 2.141.057

grupo a doença desenvolve-se em idade mais precoce, tem progressão mais rápida e confere menor sobrevida renal em longo prazo. Especula-se que a evolução de um fator crítico de sobrevivência na África Subsaariana possa ter contribuído para as altas taxas de doença renal na população com essa ancestralidade. Até o momento não existem no Brasil estudos investigando a prevalência das variantes de risco do gene da APOL1 em afro-brasileiros, e a prevalência de nefropatias crônicas associadas às variantes do APOL1. As ações de promoção e prevenção da DRC em afro-brasileiros devem envolver o conhecimento desses fatores de risco, pois esses indivíduos estão expostos à doença mais precoce e maior taxa de progressão para os estágios finais da DRC, necessitando terapia renal substitutiva com diálise ou transplante. Desta forma, o objetivo primário desse estudo é determinar a prevalência do genótipo de alto risco G1+G2 do gene da APOL1 (combinados) e de baixo risco (G1 ou G2 isolados, ou nenhum dos dois) em pacientes afro-brasileiros portadores de doença renal crônica associada a hipertensão arterial sistêmica e glomeruloesclerose segmentar e focal primária, não familiar, comparado a indivíduos afro-brasileiros saudáveis. Serão recrutados pacientes adultos dos ambulatórios de Doença Renal Crônica e de Glomerulopatias do Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, RS. Como controles, serão selecionados trabalhadores afro-brasileiros saudáveis do HCPA, que não tenham evidência clínico-laboratorial de doença renal. São estimados 141 indivíduos de etnia negra em cada grupo para detectar um odds ratio de 2 para ocorrência de DRC, levando em consideração a frequência de 30% do genótipo de risco G1/G2 na população africana. Para a caracterização clínica e genômica de ambos grupos serão coletados dados clínico-laboratoriais prévios e atuais relevantes, e uma amostra de sangue para avaliação de parâmetros bioquímicos e extração de DNA. A presença do haplótipo será determinada pela reação em cadeia da polimerase em tempo real e por análise de fragmento.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Determinar a prevalência do genótipo de alto risco G1+G2 do gene da APOL1 (combinados) e genótipos de baixo risco (G1 ou G2 isolados, ou nenhum dos dois) em pacientes afro-descendentes portadores de doença renal crônica (DRC) associada a hipertensão arterial sistêmica ou glomeruloesclerose segmentar e focal esporádica ou familiar comparado a indivíduos afrodescendentes saudáveis.

Objetivos secundários:

- Determinar o risco de DRC estabelecida nos estágios 3a, 3b, 4 e 5 (não diálise e diálise) a partir

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 90.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3359-7640 Fax: (51)3359-7640 E-mail: ospcpa@hcpa.edu.br

Continuação do Parecer: 2.141.067

da presença do genótipo de alto risco G1+G2 do gene APOL1;

- Determinar o risco de DRC terminal atribuída à nefrosclerose hipertensiva a partir da presença do genótipo de alto risco G1+G2 do gene APOL1;
- Determinar o risco de glomeruloesclerose segmentar e focal primária a partir da presença do genótipo de alto risco G1+G2 do gene da APOL1;
- Comparar o grau de dano crônico da biópsia renal, através da porcentagem de fibrose intersticial e atrofia tubular e de glomeruloesclerose global, de pacientes afro-descendentes com glomeruloesclerose segmentar e focal primária com genótipo de alto risco em relação aqueles com genótipo de baixo risco.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Possíveis Riscos: Possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são relacionados à coleta do sangue, que poderá causar um pequeno desconforto como dor no braço, hematomas (mancha roxa) e muito raramente infecções no local da coleta.

Possíveis Benefícios: Os possíveis benefícios pela participação na pesquisa são relacionados à identificação de uma alteração genética que está associada a um risco aumentado de resultados desfavoráveis da Doença Renal Crônica. No entanto, podem não haver benefícios diretos pela participação. Além disso, essa pesquisa aumentará o conhecimento sobre a influência dessas variantes e influencia na doença renal.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto muito bem apresentado, relevante e atual. A hipótese dos pesquisadores é que o genótipo de risco das variantes G1 e G2 do gene APOL1 está associado com maior risco de doença renal crônica, glomeruloesclerose segmentar e focal e doença renal crônica terminal associada a hipertensão arterial em pacientes afro-descendentes. Para isso estudarão 338 indivíduos, sendo 169 pacientes afro-descendentes com diagnóstico de doença renal crônica associada à hipertensão arterial sistêmica (DRC-HAS) ou diagnóstico de glomeruloesclerose segmentar e focal primária (esporádica) ou familiar (GESF), procedentes do ambulatório de Doença Renal Crônica e de Glomerulopatias do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e Santa casa de Misericórdia e 169 indivíduos afro-descendentes saudáveis, sem evidência clínico-laboratorial de doença renal, funcionários do HCPA. Após aprovação do projeto, será solicitado à Coordenadoria de Gestão de Pessoas uma lista de colaboradores do HCPA que se autodeclarou negro. Esses colaboradores serão convidados a participar da pesquisa através de telefonema e contato pessoal. Será realizada imunohistoquímica para a proteína da APOL1 em tecido renal parafinado em um grupo de

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 90.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3359-7640 Fax: (51)3359-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

Continuação do Parecer: 2.141.067

pacientes cadastrados do Serviço de Nefrologia (n=80) que possuem biópsia renal. Alguns aspectos não ficaram claros no projeto e deverão ser esclarecidos, conforme a lista de pendências abaixo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto e formulário de delegações de funções estão adequados. São apresentados 3 TCLEs para pacientes e controles, e estão adequados.

Recomendações:

* Nos TCLEs revisar a informação "Centro de Pesquisa Clínica do CPC".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto pendente conforme a lista de pendência abaixo:

- 1) Em relação a etnia: esclarecer como será realizada a classificação dos pacientes (autodeclarada, cor da pele, etc). A população brasileira apresenta um alto grau de miscigenação, e poderá apresentar um perfil diferente da população americana ou europeia em relação a este genótipo, que é em geral classificada apenas como negra ou branca. É provável que pessoas brasileiras aparentemente brancas sejam afro-descendentes e não sejam autodeclaradas. Os pesquisadores deverão esclarecer como levarão em consideração este fator.
- 2) Se a Santa Casa de Misericórdia for efetivamente participar do estudo deverá ser acrescentada como instituição participante ou co-participante.
- 3) Sugerimos apresentar em forma de figura a seleção/recrutamento, mostrando o N e origem dos participantes, já que para a realização de imunohistoquímica serão utilizados só 80 pacientes. Estes estarão incluídos nos 169 casos ou são pacientes diferentes?

A UARP/GPPG encontra-se à disposição dos pesquisadores para auxiliar na resposta às pendências, na revisão de Termos de Consentimento e para quaisquer outros esclarecimentos, se necessário.

Considerações Finais a critério do CEP:

A análise foi realizada com base em todos os documentos apresentados, incluindo o projeto em sua íntegra. O projeto deverá estar cadastrado também no sistema WebGPPG, em função dos aspectos logísticos e financeiros.

Os pesquisadores deverão responder a todos os questionamentos indicados na lista de pendências apontadas no campo Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações deste parecer,

Endereço: Rua Ramão Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 90.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3359-7640 Fax: (51)3359-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

Continuação do Parecer: 2.141.057

identificando claramente as respostas de acordo com a numeração das pendências, através de uma carta ao CEP (em documento editável/word), que deverá ser adicionada à Plataforma Brasil. Quando a resposta alterar os documentos anteriormente submetidos, como, por exemplo, o projeto ou o TCLE, adicionar na carta de respostas claramente a identificação do item que foi modificado e nova versão dos documentos.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_942989.pdf	13/06/2017 14:52:26		Aceito
Outros	Delegacao.pdf	13/06/2017 14:47:22	FRANCISCO JOSÉ VERÍSSIMO VERONESE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Brochura_Investigador_APOL1_e_Doenca_Renal.pdf	13/06/2017 14:45:21	FRANCISCO JOSÉ VERÍSSIMO VERONESE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMOS_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO.pdf	13/06/2017 14:41:57	FRANCISCO JOSÉ VERÍSSIMO VERONESE	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_projeto_APOL1.pdf	13/06/2017 13:59:58	FRANCISCO JOSÉ VERÍSSIMO VERONESE	Aceito

Situação do Parecer:

Pendente

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 27 de Junho de 2017

Assinado por:
Marcia Mocellin Raymundo
(Coordenador)

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Bom Fim CEP: 90.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3359-7640 Fax: (51)3359-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

ANEXO VII

STROBE Statement - checklist of items that should be included in reports of observational studies

Item	Recomendação
<p>No.</p> <p>Title and abstract</p> <p>1 Determinar a prevalência dos alelos e genótipos de <i>APOLI</i> em pacientes afro-descendentes portadores de</p>	<p>doença renal crônica (DRC) associada à hipertensão arterial sistêmica ou glomeruloesclerose segmentar e focal esporádica ou familiar comparado a indivíduos afrodescendentes saudáveis.</p>

Indivíduos de ascendência africana desenvolvem doença renal crônica (DRC), especialmente doença renal crônica terminal associada à hipertensão arterial sistêmica (HAS) em uma taxa de quatro a cinco vezes maior do que pessoas sem ascendência africana. Portadores das variantes de risco G1/G2 no gene da Apolipoproteína 1 (*APOLI*), localizado no cromossomo 22, apresentam um risco três vezes maior de desenvolver nefropatias do que a população sem ascendência africana

Introduction

Background/rati onale

2 Espera-se que o estudo indique a prevalência dos alelos de risco do Gene da Apolipoproteína 1 na população estudada.

Objectives

3 Objetivo Geral

Determinar a prevalência dos alelos e genótipos de *APOLI* em pacientes afro-descendentes portadores de doença renal crônica (DRC) associada à hipertensão arterial sistêmica ou glomeruloesclerose segmentar e

focal esporádica ou familiar comparado a indivíduos afrodescendentes saudáveis.

Objetivos Específicos

Revisar a literatura sobre o impacto da presença dos alelos de risco em *APOLI*, com foco em estudos da população brasileira.

- Caracterizar o perfil clínico e demográfico de pacientes com DRC, relacionando as variáveis com a presença dos alelos de risco.

- Determinar o risco de DRC terminal atribuída à nefroesclerose hipertensiva a partir da presença do genótipo de alto risco G1+G2 do gene da *APOLI*

- Determinar o risco de glomeruloesclerose segmentar e focal primária a partir da presença do genótipo de alto risco G1+G2 do gene da APOL1

- Determinar a ancestralidade da amostra através de marcadores genéticos.

Methods

Desenho do estudo	4	Estudo Caso Controle
Setting	5	Avaliar a prevalência dos polimorfismos p.S342G e p.I384M do gene APOL1 na população portadora de GESF primária em tratamento em Serviços de Nefrologia, assim como desfechos clínicos associados a presença do polimorfismo.

Participants	6	345 sujeitos afrodescendentes adultos, 175 pacientes portadores de Doença Renal não Diabética, 170 sujeitos saudáveis.
Variables	7	Idade de início dos sintomas, sexo, raça, presença de síndrome nefrótica ou proteinúria patológica, presença de hipertensão arterial, medicações imunossupressoras utilizadas, tipo de resposta à terapia imunossupressora, evolução para DRCT e recorrência da GESF após o transplante renal. As variáveis laboratoriais avaliadas foram creatinina sérica (mg/dL), albumina sérica (g/dL), proteinúria de 24 horas (g/24 horas) ou calculada pelo índice proteinúria/creatininúria (IPC) em amostra aleatória de urina, taxa de filtração glomerular estimada.
Data sources/ measurement	8 *	Dados clínicos e laboratoriais realizados através de revisão de prontuário. A genotipagem dos polimorfismos foi realizada no Laboratório de Medicina Genômica (LMG) do Centro de Pesquisa Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. O DNA de cada amostra foi extraído com kit comercial FlexiGene [®] DNA kit de acordo com as instruções do fabricante e quantificado no espectrofotômetro Nanodrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). O sequenciamento completo do genoma foi realizado por empresa terceirizada no equipamento NovaSeq da Illumina [®] . A profundidade dos sequenciamentos foi de no mínimo 10X. Os dados de sequenciamento foram processados conforme as diretrizes da Associação Americana de Informática Médica e da Associação de Patologia Molecular (Roy et al., 2018).
Bias	9	N/A

Study size	10	O cálculo amostral foi calculado através do Programa SPSS versão 20.0, considerando um Odds Ratio de 4.9 para o desenvolvimento de DRC associada a hipertensão arterial em pacientes afro-descendentes portadores do genótipo de alto risco G1+G2 do gene da APOL1. Será necessário incluir pelo menos 141 indivíduos no grupo exposto e 141 indivíduos no grupo controle, considerando um poder de estudo de 90% e um nível de significância de 5% (alfa de 0,05). Devido à estimativa de perda de 20% da amostra ao longo do estudo, serão incluídos indivíduos em cada grupo, totalizando 338 indivíduos na pesquisa.
------------	----	--

Quantitative variables	11	Os dados serão apresentados como frequência absoluta e porcentagem, média±desvio padrão (DP), ou mediana e intervalo interquartil.
------------------------	----	--

Statistical methods	12	As análises descritivas relativas aos dados clínicos foram descritas de acordo com as frequências absolutas, relativas e as medidas de tendência central, assim como as medidas de dispersão. Os grupos amostrais, casos e controles, foram comparados em relação aos alelos G1 e G2, e as características clínicas. A caracterização da amostra e as comparações entre os grupos (casos e controles) foram feitas por meio do teste χ^2 de Pearson e exato de Fisher. Casos e controles foram comparados quanto às suas frequências alélicas e genótípicas, e o equilíbrio de Hardy-Weinberg foi testado
---------------------	----	--

Results

Participants	13*	(a) 345 participantes
--------------	-----	-----------------------

(b) 175 casos

(c) 170 controles			
data	Descriptive 4*	1	175 casos 170 controles
data	Outcome 5*	1	<p>Considerando como genótipo de risco a presença de alelos em heterozigose (concomitantemente tanto em G1 quanto em G2) e também a presença de homozigotos em G1 e G2 (G1/G1, G1/G2, G2/G2), observamos que 87.3% (137) dos casos não apresentam o genótipo de risco e que 12,7%</p> <p>(20) dos casos apresenta genótipo de risco; quando avalia-se os controles, 96,9% (156) dos controles não apresentam genótipos de risco e 3,1% dos controles apresentam genótipos de risco ($p=0.001$).</p> <p>A análise de regressão logística univariada mostrou um risco aumentado (OR = 4,55; IC 95% 1,66-12,46; $p=0.03$), indicando um risco significativo para DRC associado aos genótipos de <i>APOLI</i>. Os modelos de risco foram ajustados a fim de minimizar o impacto dos confundidores. Foram utilizadas as variáveis idade e o sexo para o modelo de regressão multivariado. Considerando sexo e idade, o risco estimado para <i>APOLI</i> ficou em OR = 4.717 (IC 95% 1.53 - 14.53, $p=0.007$).</p>

Main results 1 Dos 345 indivíduos recrutados, para 328 foi possível
6 realizar a análise molecular, sendo 318 genomas completos
e 10 por análises de PCR em tempo real e análise de
fragmentos. Considerando a amostra total genotipada, a
frequência dos alelos de G1 foi de 11% na amostra
(rs73885319, A:0.883648/ G:0.116352; e
rs60910145, T:0.886792/ G:0.113208) já a frequência
alélica de G2 foi estimada em 5%
(rs71785313/rs14383830837, AATAATT:0.946541/
INDEL:0.0534591) (Tabela 2). Do total, 7,9% (25)

portavam o genótipo de risco (G1/G1, G1/G2, G2/G2) e 92,1% (293) se enquadraram fora dos genótipos de risco (G0). Os alelos estão em desequilíbrio de HW com perda de heterozigosidade (rs73885319: Obs 256/50/12 X Esp 248.31/65.39/4.31; ChiSq= 1.761485e+01; p= 2.187177e-04, def Het, 2.187177e-04) e (rs60910145: Obs 258/48/12 X Esp 250.08/63.85/4.08; ChiSq= 1.959408e+01, p= 1.166388e-04; def Het 1.166388e-04)

(Tabela 2). Entre as variantes que compõem o alelo de risco G1 (rs73885319 e rs60910145), a variante rs73885319, (A > G) de G1, está presente em heterozigose em 15,9% dos casos e em 15,5% dos controles, e em homozigose em 6,4% dos casos e 1,9% dos controles. Já a variante rs60910145, (T > G) de G1, está presente em heterozigose em 15,3% dos casos e em 14,9% dos controles e em homozigose em 6,4% dos casos e 1,9% dos controles. Já a variante de inserção deleção (indel) rs143830837, (delTTATAA) de G2, no grupo de casos, 86,6% dos indivíduos apresenta o genótipo G0, 13,4% é heterozigoto para G2 e nenhum indivíduo em homozigoto. No grupo dos controles para o alelo G2, 93,2% apresentaram o genótipo G0, 6,2% apresentaram o genótipo heterozigoto e 0,6% apresentaram o genótipo homozigoto para G2

Other analyses	7	1	As análises de componente principal (PCA) de ancestralidade global da amostra mostraram que os indivíduos do estudo estão bem discriminados dos demais grupos populacionais, e que se apresentam de forma intermediária, demonstrando assim a miscigenação desta população (Figura 1). Tal resultado é corroborado pelas análises de proporção das ancestralidades africanas, europeias e nativo americanas, as quais mostraram que a
----------------	---	---	---

representam em média uma proporção de 49%, 33% e 18%, respectivamente

Discussion

Key results	8	1	A prevalência dos polimorfismos p.S342 e p.I384M na população adulta deste estudo estão em consonância com a prevalência descrita em outras publicações em pacientes adultos com GESF esporádica.
Limitations	9	1	Houve análise de 3 polimorfismos relacionados ao gene <i>APOL1</i> , consideramos a necessidade de novos estudos, incluindo um maior número de pacientes com GESF familiar ou esporádica, e analisando um número maior de polimorfismos para se definir uma estratégia sobre a indicação da análise genética e suas implicações terapêuticas no manejo clínico dessa condição.
Interpretation	10	2	Com base nos achados, consideramos que a pesquisa dos polimorfismos do gene <i>NPHS2</i> podem ser uma alternativa terapêutica promissora no manejo dos pacientes com GESF primária.
Generalisability	11	2	Investigar os polimorfismos do gene <i>NPHS2</i> , a relação da presença do polimorfismo com a resistência ao tratamento imunossupressor, o potencial de mudança no protocolo de investigação dos pacientes, evitando tratamentos desnecessários e inserindo o aconselhamento genético nos pacientes com GESF primária.

Other information

Funding	2	Este estudo foi financiado pelo Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE / HCPA), pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brasil.
---------	---	--

*Give information separately for cases and controls in case-control studies and, if applicable, for exposed and unexposed groups in cohort and cross-sectional studies.

Note: An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at www.strobe-statement.org.

ANEXO VIII

Comprovante de submissão ao periódico *Brazilian Journal of Nephrology*



Fernanda Sales Luiz Vianna fvianna <fvianna@hcpa.edu.br>

Brazilian Journal of Nephrology - Manuscript ID JBN-2022-0171

1 mensagem

Fabiana Montanari Lapido <onbehalf@manuscriptcentral.com>

2 de dezembro de 2022 15:38

Responder a: fabiana.lapido@gmail.com

Para: bibianafam@hotmail.com, bibiana.so@gmail.com

Cc: cmmartins@hcpa.edu.br, bibianafam@hotmail.com, bibiana.so@gmail.com, giudicelligc@gmail.com, fvianna@hcpa.edu.br, fveronese@hcpa.edu.br

02-Dec-2022

Dear Dr. Fam:

Your manuscript entitled "Survey on association studies between Apolipoprotein 1 (APOL1) variants and Chronic Kidney Disease with a focus on the Brazilian Afro-descendant population" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Brazilian Journal of Nephrology.

Your manuscript ID is JBN-2022-0171.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/jbn-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/jbn-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Brazilian Journal of Nephrology.

Sincerely,
Brazilian Journal of Nephrology Editorial Office