

55

ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO RS284875 NO GENE TGFBR3 COM ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ANEMIA FALCIFORME



A.B.L.M. Rafael^a, D.M.L. Silva^a, G.S. Arcanjo^a, A.B.S. Araújo^a, B.V. Alcântara^a, M.A. Melo^a, A.S. Araújo^b, A.C.D. Anjos^b, M.A.C. Bezerra^a, A.R.L. Araújo^a

^a Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^b Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (Hemope), Recife, PE, Brasil

Objetivos: Dentre as complicações clínicas da anemia falciforme (AF), o acidente vascular encefálico (AVE) é a de maior gravidade, acometendo principalmente crianças com AF. O risco de AVE é diretamente proporcional ao aumento da velocidade média das artérias cerebrais que pode ser medida por ultrassonografia através do Doppler Transcraniano (DTC). Entretanto, aproximadamente 5% das crianças apresentam DTC inadequado por não se conseguir mensurar o fluxo sanguíneo e outros 19% de crianças com AF, mesmo com DTC normal podem vir a desenvolver o AVE. Diante disso, percebe-se a importância de identificar novos indicadores do risco de desenvolvimento do AVE em pacientes com AF. O TGFBR3 (Fator de crescimento transformador β) é uma citocina anti-inflamatória e dentre suas várias funções encontra-se a inibição da produção de óxido nítrico (NO) contribuindo para ocorrência de vaso-oclusão, pois potencializa a vasoconstricção e aumento da aderência ao endotélio vascular. O TGFBR3 é um proteoglicano de membrana de receptores TGF- β . Polimorfismos no seu gene codificante, TGFBR3, foram associados a doenças cerebrovasculares e ao fenótipo de hemólise na Anemia Falciforme, podendo estar relacionados ao aumento de risco de AVE. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar a associação do polimorfismo rs284875 do gene TGFBR3 com o desenvolvimento de doença cerebrovascular em pacientes pediátricos portadores de AF acompanhados no serviço de Hematologia e Hemoterapia da Fundação Hemope. **Métodos:** Após aprovação pelo comitê de ética (CAAE: 21722613.7.0000.5208), foram selecionados 325 indivíduos com AF menores de 18 anos de idade, dos quais foi efetuada a análise de prontuários médicos para coleta de dados clínicos. A genotipagem foi feita por qPCR usando o sistema de sondas TaqMan e a análise estatística foi feita pelo software SPSS Statistics 19.0. **Resultados:** A partir da velocidade do fluxo sanguíneo cerebral medida pelo DTC, os pacientes foram classificados em: DTC normal (190; 67,3%), DTC condicionante (61; 21,7%) e DTC alto risco (31; 11,0%). A frequência genotípica para o polimorfismo rs284875 encontradas foram respectivamente: 87,4% para o genótipo GG (homozigoto selvagem), 12,0% para o genótipo heterozigoto GA e 0,6% para o genótipo homozigoto variante AA. Quando comparado com o DTC, o polimorfismo não mostrou associação estatística significativa ($p=0,614$). Também não foi encontrada relação com a incidência de AVE e nem com variáveis relacionadas com o desenvolvimento do AVE ($p>0,05$). **Conclusões:** Neste estudo,

não foi possível encontrar associação do polimorfismo estudado com o risco de AVE e DTC alterado na nossa população de estudo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.056>

56

ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO RS489347 NO GENE TEK COM O DESENVOLVIMENTO DE ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ANEMIA FALCIFORME



D.M.L. Silva^a, A.B.L.M. Rafael^a, G.S. Arcanjo^a, A.B.S. Araújo^b, B.V. Alcântara^b, M.A. Melo^b, A.S. Araújo^c, A.C.D. Anjos^c, M.A.C. Bezerra^a, A.R.L. Araújo^a

^a Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^b Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^c Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (Hemope), Recife, PE, Brasil

Objetivos: A fisiopatologia da anemia falciforme gira em torno de dois grandes fenômenos; o da falcização das hemácias e o da intensa hemólise. Esses fatores unidos levam a um quadro de vaso-oclusão na microcirculação. Dentre as manifestações clínicas da doença, destaca-se o acidente vascular encefálico (AVE) que é 300x mais comum em crianças com AF do que em crianças que não possuem a doença. O AVE é detectado através do exame de imagem intitulado de Doppler Transcraniano (DTC) que consiste em medir a velocidade do fluxo sanguíneo das artérias cerebrais, onde o risco de desenvolver o AVE é interpretado como o aumento dessa velocidade. Atualmente o DTC é único método de detecção do AVE nesses pacientes, entretanto, aproximadamente 5% das crianças apresentam DTC inadequado por não se conseguir mensurar o fluxo sanguíneo e outros 19% de crianças com AF, mesmo com DTC normal podem vir a desenvolver o AVE. Tendo em vista as limitações do DTC e o caráter multifatorial do AVE, diversos estudos de associação tem apontado para o papel de moduladores genéticos no desenvolvimento do AVE na AF e para a importância da identificação de modulares que melhor funcionem como indicador de risco da manifestação clínica nos pacientes. Dentre os candidatos, temos o gene TEK que codifica um receptor de tirosina quinase endotelial intitulado TEK ou Tie2 que está envolvido em respostas anti-inflamatórias, homeostase endotelial e expressão de moléculas de adesão. Evidências apontam que o polimorfismo rs489347 do gene TEK está associado com a predisposição ao AVE em pacientes com AF. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi investigar a associação do polimorfismo rs489347 do gene TEK com o desenvolvimento de doença cerebrovascular em pacientes pediátricos portadores de AF acompanhados no serviço de Hematologia e Hemoterapia da Fundação Hemope. **Métodos:** Após aprovação pelo comitê de ética (CAAE: 21722613.7.0000.5208), foram selecionados 270 indivíduos entre 07-18 anos (mediana de idade: 13 anos), dos quais foi realizada a análise de prontuários médicos para

coleta de dados clínicos. A genotipagem foi feita por qPCR usando o sistema de sondas TaqMan e a análise estatística foi feita pelo software SPSS Statistics 19.0. **Resultados e discussão:** Com base na velocidade do fluxo sanguíneo cerebral medida pelo DTC, os pacientes foram agrupados em: DTC normal (155 pacientes; 64,8%), DTC condicionante (56 pacientes; 23,5%) e DTC alto risco (28 pacientes; 10,4%). A distribuição genotípica encontrada para o polimorfismo rs489347 foi como se segue: 65,5% para o genótipo CC (homozigoto selvagem), 25,9% para o genótipo heterozigoto CG e 8,5% para o genótipo homozigoto variante GG. A taxa de ocorrência de AVE no grupo analisado foi 6,6% (18 pacientes) com mediana de idade de 06 anos (01- 10 anos). Quando comparado com o DTC, o polimorfismo não mostrou associação significativa: $p=0,181$. Quanto à associação com AVE e DCV, também não foram encontradas associações estatísticas sendo $p=0,721$ para o AVE e $p=0,692$ para DCV de forma que os resultados apontam para discordâncias dos achados com o gene TEK em relação a literatura estudada. **Conclusões:** O polimorfismo rs489347 do gene TEK, apesar de já descrito como modulador genético das complicações da AF, não se mostrou associado com o desenvolvimento de DCV em pacientes pediátricos com AF na população estudada.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.057>

57

ASSOCIATION BETWEEN INFLAMMATORY MOLECULES, OXIDE NITRIC METABOLITES AND LEG ULCERS IN INDIVIDUALS WITH SICKLE CELL ANEMIA

A.R. Belisário^a, F. Mendes-Oliveira^a, V.R. Souza^a, E. Bolina-Santos^a, F.G. Mendes^a, E.C. Moreno^a, A.T. Franca^a, E.C. Sabino^b, D.A. Otta^c, E.S. Faria^c, J.G.A. Coelho-Dos^c, O.A. Martins-Filho^c, A.B. Carneiro-Proietti^c

^a Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Minas Gerais (Hemominas), Belo Horizonte, MG, Brazil

^b Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^c Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Belo Horizonte, MG, Brazil

Aim: Leg ulcers (LU) are relatively common in patients with sickle cell anemia (SCA). The role of inflammation and nitric oxide (NO) pathways in the pathophysiology of LU is not understood. The aim of this study was to verify the association between inflammatory molecules and nitric oxide metabolites (NOx) and the occurrence of LU in patients with SCA. **Methods:** It was a cross-sectional study carried out in adult participants with SCA followed at Fundação Hemominas, a public blood center in Brazil. Eligible participants were recruited and included in one of two groups: group 1 - cases with SCA (Hb SS) and at least one LU at the time of inclusion in the study; group 2 - controls with SCA without history of LU, matched by sex and age to cases. Participants were interviewed to collect sociodemographic data and blood samples were collected. Clinical and laboratory data were abstracted from medical

records. Nitric oxide metabolites (NOx) and inflammatory molecules were quantified using an immunoassay and Multiplex xMAP® technology, respectively. **Results:** Eighty-seven individuals were included, ranging in age from 17 to 61 years (mean 40 ± 10.7 years); 30 had LU and 57 were controls without LU. Participants with LU had significantly higher levels of interleukin (IL)-8, IL-10, IL-15, NOx, platelets and white blood cells (WBC) count when compared to those without LU. Additional analysis using the median value revealed 3.5 times (OR=3.51, 95%CI 1.27–9.69; $p=0.017$) greater odds of having LU in participants with IL-10 above the median. Similarly, participants with IL-8 above the median had 2.9 times (OR=2.86, 95%CI 1.06–7.78; $p=0.05$) greater odds of having LU. Participants with nitrite and nitrate above the median had 6.3 (OR: 6.3, 95%CI 2.16–18.20; $p=0.001$) and 7.4 (OR: 7.4, 95%CI 2.53–21.71; $p<0.001$) times greater odds of having LU, respectively. Participants with LU had significantly higher risk of history of osteomyelitis (OR=6.88; 95%CI 1.29–36.54; $p=0.018$) and higher use of antiseptic soap (OR=6.47; 95%CI 1.79–23.45; $p=0.004$) in bathing when compared to those without LU. **Discussion:** IL-15 is a proinflammatory cytokine that play a central role in defense mechanisms against pathogens, and in tissue-resident memory T cell homeostasis in the epidermis, which may explain the association with LU found in our study. In turn, IL-8 and IL-10 are important inflammatory molecule and their level has been reported to be increased in patients with SCA during VOE and albuminuria. Production of NO is increased in wounded tissue due to activation of endothelial nitric oxide synthase and increased production of inducible nitric oxide synthase. It is possible that the higher NOx levels observed in participants with LU are a consequence of a higher requirement for NO to neutralize inflammation, promote vasodilatation, inhibit platelet aggregation and endothelial activation. Our data showed that individuals with LU had about 7 times higher odds of history of osteomyelitis. From this data, it is reasonable to conclude that one bacterial source of contamination affecting bones of patients with SCD is the ulcerations, suggesting that patients with LU should be strictly monitored for the occurrence of osteomyelitis. **Conclusion:** In conclusion, our results showed that NOx, inflammatory molecules, and hematological features were associated with LU in Brazilian adults with SCA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.058>

