

mmHg, 125bpm, 38,3°C e saturação 100%. 20:53h - Hb 5,5 g/dL; bilirrubina indireta 2,85, DHL 993 e reticulócitos 1%. 23:10h – iniciado Prednisona 1 mg/kg. Hb 4,7. Dia 02/05: 12hs – PAI, TAD (IgG 4+ / IgA 4+ / IgM 3+ / C3c 1+ / C3d 4+), auto controle positivos. 16h - piora clínica e crise convulsiva. 17h - instalada transfusão de hemácias 100ml com PC negativa com soro adsorvido. 18:40h - febre, tremores e hipotensão, sendo interrompida a transfusão após 50 mL. 20:50h - paciente gravíssimo e instável. 21:49h - Hb 2,9 e BI 4,56 - prescrito Imunoglobulina, ciclofosfamida e metilprednisolona. Dia 03/05: 08h - rebaixamento do nível de consciência. 08:55h - nova dose de Imunoglobulina e instalada transfusão (100 mL), sem intercorrências. 13h - Hb 1,8 e reticulócitos de 0,54%, prescrito eritropoetina. 14:20h - choque refratário. 17:22h – óbito. Demais exames: eletroforese de Hb normal; sorologias hepatite B, C, HIV, HTLV, CMV, toxoplasmose, Epstein Barr e sífilis negativas; fator reumatoide inferior a 8,4. **Discussão:** No caso, o paciente apresentou um quadro de dengue em fev/24, complicado com provável AHAI a quente, seguido de nova infecção após 2 meses. No D13 do segundo quadro, internou com sintomas de anemia há 4 dias, exames sugestivos de piora importante da AHAI e Hb de 5,5 g/dL. A reticulocitopenia, evidenciada em 2 exames, pode estar presente em até 20% dos casos de AHAI e representa falha na resposta compensatória da medula óssea, por hemólise severa associada a sepse ou por autoanticorpos contra os eritroblastos. Analisando as transfusões, a primeira foi instalada 18h após o corticoide, mas teve de ser interrompida, com exames pós apresentando queda da Hb para valores inferiores aos pré. Esse resultado sugere quadro de hiper hemólise, que pode ser decorrente do aumento da ativação e deposição de complemento nas células autólogas. Nova transfusão foi realizada, após metilprednisolona, imunoglobulina e ciclofosfamida e concomitante a administração da 2a dose de imunoglobulina, sem intercorrências. Contudo, exames mostraram nova queda do Hb (1,8 g/dL). Todos esses fatores dificultaram o manejo e contribuíram para a maior gravidade do quadro, representando um impacto importante no desfecho do paciente. **Conclusão:** Considerando a alta incidência de dengue no país e o baixo relato de casos de AHAI secundária, ainda com complicação de hiper hemólise, precisamos de atenção com esses pacientes que cursam com dengue grave e sinais de anemia sem sangramentos aparentes. O teste de Coombs direto e provas de hemólise podem ser um grande aliado para a suspeita diagnóstica.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.062>

IMPACTO E AGRAVANTES DA DOR CRÔNICA NAS DOENÇAS FALCIFORMES: RESULTADOS DA ANÁLISE DE QUESTIONÁRIOS PROMIS E DO PERFIL METABOLÔMICO DE PACIENTES ADULTOS BRASILEIROS

LBO Souza ^{a,b}, TB Assis ^b, AS Santos ^a,
AB Zangirolami ^a, RT Seber ^b, FF Costa ^a,
STO Saad ^a, BD Benites ^a

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia
(Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas
(UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Instituto de Biologia, Universidade Estadual de
Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Objetivos: Dor crônica é uma complicação frequente e debilitante das Doenças Falciformes (DF). O objetivo deste estudo foi avaliar seu impacto na saúde mental e qualidade de vida dos pacientes, além de buscar identificar moléculas associadas à sua ocorrência, na prospecção de novos alvos terapêuticos. **Material e métodos:** Pacientes adultos com DF acompanhados no Hemocentro UNICAMP completaram questionários PROMIS (Patient-Reported Outcomes Measurement Information System) validados para língua portuguesa, nos domínios de depressão, ansiedade e interferência da dor na vida diária. Os resultados foram reportados na forma de T scores em relação a uma população referência, e usados na busca de correlações com dados clínicos e laboratoriais. Em paralelo, amostras plasmáticas dos mesmos pacientes e de controles saudáveis foram submetidas a análise de perfil metabolômico por Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada à Espectrometria de Massa de Alta Resolução (UHPLC-HRMS) não direcionada (untargeted) na busca de possíveis marcadores moleculares diferenciando pacientes com ou sem dor crônica. **Resultados:** Foram incluídos 43 pacientes, com mediana de idade de 43 anos (15-78), sendo 27 (63%) do sexo feminino, 25 HbSS, 08 HbSC, 7 Sbeta-talassemia e 3 HbSD. Comparando-se os indivíduos de acordo com a presença ou não de dor crônica: indivíduos com dor crônica têm maior mediana de idade (39.3 x 48.7, $p = 0.026$), maiores níveis de Hb (9,9 x 8,7, $p = 0.038$), menores contagens leucocitárias totais (6.35 x 7.68, $p = 0.04$), mas sem diferenças significativas nos resultados dos testes PROMIS. Entretanto, a ocorrência de pelo menos uma crise vasooclusiva (CVO) nos últimos 6 meses ou o diagnóstico de necrose óssea avascular tiveram relação estatisticamente significativa com piores resultados nos 3 domínios PROMIS testados. Além disso, quanto menor a renda dos pacientes, pior o impacto da dor na vida diária ($r = -0.46$, $p < 0.001$). Em relação às análises por UHPLC-MS, foram identificadas 107 moléculas com significativa diferença de expressão entre controles saudáveis, pacientes com dor crônica ou sem dor crônica. Dentre elas, observou-se maior expressão de moléculas do sistema endocanabinóide (2-Arachidonoylglycerol e 2-Eicosapentaenoyl-glycerol) nos pacientes sem dor crônica, e a maior expressão de lisoplasmenilcolina e ácido adrênico no grupo acometido por dor crônica. **Discussão:** Nesta coorte de pacientes brasileiros, demonstrou-se que a ocorrência de CVOs, o diagnóstico de necrose óssea e baixa renda estão relacionados a piores índices de ansiedade, depressão e interferência da dor na vida diária. A maior expressão de moléculas do sistema endocanabinóide pode indicar um fator de proteção nos pacientes que não são acometidos por dor crônica. Já nos pacientes com dor crônica, o aumento de ácido adrênico pode estar associado a maior ocorrência de ferroptose, mecanismo já descrito como envolvido no desenvolvimento de dor neuropática; e lisoplasmenilcolina é liberada em resposta a hipóxia e geração de trombina, e aumenta a adesividade celular ao endotélio, revelando possíveis mecanismos microvasculares associados a maior ocorrência de dor. **Conclusão:** Este é o primeiro trabalho empregando UHPLC-HRMS untargeted para análise exploratória de metabólitos envolvidos em dor crônica nas

Doenças Falciformes, identificando potenciais alvos-terapêuticos a serem explorados em futuros ensaios clínicos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.063>

POTENTE REATIVAÇÃO DA PRODUÇÃO DE HEMOGLOBINA FETAL POR NOVO INIBIDOR SELETIVO DE HISTONA DEACETILASE 1 E 2

VGF Pastre ^a, AR Pavan ^a, C Lanaro ^a,
DM Albuquerque ^a, RC Chelucci ^b, LLG Ferreira ^b,
AD Andricopulo ^b, JLD Santos ^c, FF Costa ^a

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia
(Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas
(UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Instituto de Física de São Carlos, Universidade de
São Paulo (USP), São Carlos, SP, Brasil

^c Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade Estadual de São Paulo, Araraquara,
SP, Brasil

Introdução: A reativação dos genes da γ -globina (HBG1/2), que resultam na produção de hemoglobina fetal (HbF), é uma estratégia terapêutica validada para o tratamento da doença falciforme (DF) e talassemia β . **Objetivo:** Investigar o Composto 2, um derivado de 2-aminobenzamida, quanto à sua capacidade de induzir a produção de HbF em células HUDEP-2, através da inibição das Histonas Deacetilases (HDACs) 1 e 2. **Métodos:** O Composto 2 foi ensaiado em células HUDEP-2, uma linhagem derivada de progenitores eritróides. As culturas foram submetidas a tratamento com o composto durante 72 e 96 horas, nas concentrações de 0,8 μ M e 1 μ M. Após o tratamento, as células foram coletadas e a expressão dos genes HBG12 foi quantificada através de qPCR e porcentagem de células HbF-positivas foi avaliada por citometria de fluxo. Para efeitos comparativos, foi utilizado o tratamento com 100 μ M de hidroxiuréia (HU). Ainda, foi realizado ensaio de inibição da atividade das HDACs 1 e 2 pelo Composto 2, assim como, caracterização de propriedades de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME). **Resultados:** O Composto 2 aumentou significativamente os níveis de RNAm de HBG1/2. Em 72 horas, as concentrações de 0,8 μ M e 1 μ M elevaram os níveis de RNAm de HBG1/2 em 58 e 63 vezes, respectivamente (CTRL = 0,012 $\pm$ 0,002 A.U vs. 0,8 μ M = 0,68 $\pm$ 0,16 A.U e 1 μ M = 0,73 $\pm$ 0,17 A.U, $p < 0,0001$, $n = 4$). Em 96 horas, os aumentos foram de 49 e 52 vezes (CTRL = 0,022 $\pm$ 0,014 A.U vs. 0,8 μ M = 1,1 $\pm$ 0,19 A.U e 1 μ M = 1,17 $\pm$ 0,28 A.U, $p < 0,0001$, $n = 4$). Em contraste, HU a 100 μ M resultou em um aumento máximo de 10 vezes na expressão de mRNA de HBG1/2 em 72 horas ($n = 2$). A citometria de fluxo mostrou um aumento significativo em células HbF-positivas. Após 72 horas, houve um aumento para 7,06 $\pm$ 0,92% com 0,8 μ M e para 7,48 $\pm$ 0,55% com 1 μ M, comparado a 0,83 $\pm$ 0,12% nos controles ($p < 0,0001$, $n = 4$). Em 96 horas, os aumentos foram para 11,35 $\pm$ 1,15% e 12,78 $\pm$ 0,34%, comparado a 0,91 $\pm$ 0,12% ($p < 0,0001$, $n = 4$). HU induziu um aumento em células HbF-positivas para 5,65 $\pm$ 0,59% em 72 horas e 5,73 $\pm$ 0,52% em 96 horas ($p < 0,0001$, $n = 2$). Ainda, o Composto 2 inibiu 91% da atividade de HDAC1 e 71% de HDAC2 a 1 μ M. Os estudos de ADME

revelaram logD de 2,51 em pH 7,4, alta permeabilidade (Pe 14,61 $\times 10^{-6}$ cm/s), alta estabilidade metabólica ($t = 266,6$ minutos) e depuração de 10,4 μ L/min/mg. **Discussão:** As HDACs 1 e 2 desempenham um papel crítico na regulação da expressão gênica das globinas, removendo grupos acetil e compactando a cromatina, o que silencia os genes HBG. A inibição dessas enzimas promove o aumento da acetilação de histonas, abrindo a cromatina e permitindo a reativação dos genes HBG1/2. O Composto 2, ao inibir seletivamente HDAC1 e HDAC2, demonstrou uma capacidade superior de aumentar a expressão de HBG1/2 e a produção de HbF em comparação com a HU, principal fármaco aprovado para o tratamento da DF e talassemia β . **Conclusão:** A potente reativação da produção de HbF e as propriedades farmacocinéticas favoráveis (alta estabilidade metabólica e boa permeabilidade) destacam o Composto 2 como um candidato promissor para desenvolvimento como uma terapia oral, possivelmente oferecendo uma alternativa para o tratamento da DF e talassemia β .

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.064>

EFFECTS OF BCL11A SNPS ON INTERINDIVIDUAL VARIABILITY OF FETAL HEMOGLOBIN INDUCTION IN PATIENTS WITH SICKLE CELL DISEASE TREATED WITH HYDROXYUREA AT THE CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE GOVERNADOR VALADARES

L Nascimento ^a, NF Silva ^a, KA Boy ^b,
R Tognon-Ribeiro ^c, LM Mendonça ^b,
APP Santos ^d, CV Rodrigues ^b, RR Sales ^a,
PSAS Gerheim ^b, MR Luizson ^a

^a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG),
Belo Horizonte, Brazil

^b Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de
Fora, Brazil

^c Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), Alfenas,
Brazil

^d Hemocentro Regional de Governador Valadares,
Governador Valadares, MG, Brasil

Sickle cell disease (SCD) is an autosomal recessive monogenic disorder that modifies the adult hemoglobin and results in multiple clinical phenotypes. Increases in fetal hemoglobin (HbF) has clinical benefits by reducing the clinical severity of SCD. Hydroxyurea (HU) is a drug used to treat SCD that induces HbF expression, thereby ameliorating hematological and clinical profile. However, HbF response to HU treatment is highly variable among patients. A systematic review indicated that SNPs rs4671393 (A>G) and rs766432 (A>C) of BCL11A gene may help to explain interindividual variability in HbF induction in response to HU. We examined the changes in hematological profile, focused on HbF levels (%) after HU therapy. Next, we examined whether variation in BCL11A SNPs rs4671393 and rs766432 affects HbF levels in patients with SCD before and after HU therapy. We studied 93 patients