

modulador com espectro ainda mais amplo do que o previamente disposto na literatura, atuando em vias essenciais para homeostasia redox e eritropoiese.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.080>

EFEITO PROTETOR DA MELATONINA EM VIAS DE SINALIZAÇÃO REDOX EM CAMUNDONGOS TRANSGÊNICOS PARA ANEMIA FALCIFORME

FF Torres^a, VS Bernardo^a, BBV Marques^a, LNS Nunes^b, DC Noronha^c, MCM Silva^c, LS Torres^d, E Belini-Júnior^b, MAF Corat^c, DGH Silva^{a,b}

^a Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^b Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

^c Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^d Albert Einstein College of Medicine, Bronx, Estados Unidos

Objetivo: Demonstrar os efeitos protetores da melatonina (MEL) no controle do estresse oxidativo em modelo de camundongos transgênicos para anemia falciforme (AF). **Materiais e métodos:** Os camundongos foram gerados e mantidos no CEMIB/UNICAMP e divididos em três grupos: grupo controle constituído pelos animais S+Fetal (SF); animais transgênicos não tratados (SS); e animais transgênicos tratados com MEL (SS+MEL; VO 10 mg/kg) por 60 dias. Os animais foram eutanasiados por aprofundamento da anestesia (CEUA 5955-1/2022) e a medula óssea foi utilizada para análise de RT-qPCR, em pseudo quintuplicatas, de importantes genes de vias redox, tais como: NRF2, FOXO3, MST1, YWHAQ (14-3-3z), CAT, SOD1, GPX1, PRX1, TRX1 e TXNIP. A quantificação dos resultados se baseou na derivação da fórmula $2^{-\Delta\Delta CT}$. As análises estatísticas foram realizadas pelo General Linear Model, no formato one-way ANOVA, seguido pelo teste post hoc de Bonferroni. **Resultados:** Os resultados demonstraram que a expressão do NRF2 (3 vezes), FOXO3 (3 vezes) e MST1 (6 vezes) foram induzidas nos SS, resultado este não observado nos SS+MEL; além disso, o YWHAQ foi induzido no SS+MEL (2 vezes) e se manteve similar ao controle no SS. Já para via TRX1/TXNIP, para os SS+MEL, a TRX1 se manteve similar ao SF e a TXNIP foi inibida (3 vezes), enquanto para os SS ocorreu uma inibição da TRX1 (3 vezes) e os níveis de TXNIP se mantiveram similares ao controle. Em relação aos genes que codificam antioxidantes, CAT e GPX1 foram induzidas 4 e 8 vezes, respectivamente, nos SS; porém, não quando sob tratamento com MEL. Já a SOD1 e PRX1 foram mantidos similares aos SF nos SS+MEL e inibidos nos SS. **Discussão:** Vários mecanismos moleculares têm sido propostos como contribuintes para uma elevada taxa oxidativa em pessoas com AF. Intermediários da homeostase redox não são apenas marcadores potenciais da gravidade da doença, mas também alvos

importantes para terapias antioxidantes. Nossos resultados evidenciaram a atuação essencial dos fatores de transcrição NRF2 e FOXO3, em resposta ao distresse oxidativo característico da doença, como observado nos camundongos SS através da indução de seus transcritos associada a de genes sob seu controle, como das enzimas CAT e GPX1. Por outro lado, observamos uma restauração dos níveis de transcritos semelhante ao controle no grupo tratado com MEL. Já foi demonstrado que a MEL pode eliminar até dez espécies radicalares antes que o metabólito final seja eliminado do corpo, o que resulta em um efeito antioxidante em cascata. Esses resultados sugerem a noção de que a MEL atuou diretamente na detoxificação das espécies reativas no modelo usado, não sendo necessária a ativação das vias de sinalização redox. Além disso, alguns antioxidantes, como TRX, PRX1 e SOD1, que desempenham diversas outras funções celulares e são atualmente sugeridos como possíveis fatores de transcrição, foram mantidos com níveis de transcritos similares ao controle, demonstrando assim a modulação da MEL sobre genes envolvidos na resposta ao estresse oxidativo e outros processos celulares. **Conclusão:** A suplementação de camundongos transgênicos com MEL evidenciou o uso promissor dessa indolamina como estratégia terapêutica antioxidante na AF por meio da restauração dos níveis de transcritos de importantes genes envolvidos na manutenção redox para valores semelhantes ao grupo controle.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.081>

PERFIL HEMATOLÓGICO E HEMOGLOBÍNICO DO PRIMEIRO RELATO DE HETEROZIGOTO COMPOSTO PARA AS MUTAÇÕES DE BETA-TALASSEMIA IVS-II-1 (G>C) E IVS-I-5 (G>A) NO BRASIL

CDS Mattos^a, VHM Mazzarin^a, ACM Berti^{a,b}, BBV Marques^{a,b}, RP Silva^a, KC Piva^a, VS Ramos^a, E Noronha^c, GA Bernardino^{a,c}, E Belini-Júnior^a

^a Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

^b Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^c Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), São Luís, MA, Brasil

Objetivo: Relatar o primeiro caso no Brasil das mutações de beta(β)-talassemia HBB:c.315+1G>C (IVS-II-1) e HBB:c.92+5G>A (IVS-I-5) e o impacto no perfil hematológico e hemoglobínico. **Materiais e métodos:** Amostra de sangue total de um indivíduo adulto (47 anos), proveniente do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), foi encaminhada ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular (UFMS/CPTL) para diagnóstico confirmatório de hemoglobinopatias. O hemograma apresentou Hb (7,60 g/dL), VCM (87,10 fL), HCM (27,40 pg), CHCM (31,50 g/dL) e RDW (27,20%). A amostra foi submetida à Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC, Premier Resolution, Trinity Biotech) e, para

confirmação molecular, o DNA genômico foi extraído (protocolo por fenol-clorofórmio) e foram realizadas as técnicas de PCR-AE, PCR-RE e sequenciamento do gene da β -globina (*HBB*) pelo método de Sanger (3730xl DNA Analyzer, Thermo Fisher Scientific). **Resultados:** O perfil cromatográfico do paciente apresentou uma fração globínica compatível com Hb F em alta concentração (88,6%, RRT/F 1.02), e duas frações indicando Hb A e Hb A₂, respectivamente, em baixas concentrações (2,6%, RRT/A 0.98 e 2,2%, RRT/S 0.94). Os baixos níveis de Hb apresentados no hemograma, associados à significativa redução das concentrações de Hb A, sugeriram perfil compatível com β -talassemia. As PCR-AE e PCR-RE revelaram ausência de alelos mutantes para as β^0 -talassemias CD39 e IVS-I-I, respectivamente. O sequenciamento do gene *HBB* elucidou a presença da mutação *HBB*:c.315+1G>C (IVS-II-1), correspondente a uma β^0 -talassemia, acompanhada da mutação *HBB*:c.92+5G>A (IVS-I-5), uma β^{+grave} -talassemia, ambas em heterozigose. **Discussão:** Ambas as mutações de β -talassemia relatadas aqui afetam o processamento do RNAm codificado pelo gene *HBB*, acarretando na redução total (IVS-II-1, β^0) ou parcial (IVS-I-5, β^{+}) da síntese de cadeias β -globinas maduras. A mutação IVS-II-1 é caracterizada por uma substituição G>C na posição +1 do íntron II do gene *HBB*, a qual elimina o sítio doador de *splicing* 5' do RNAm, enquanto a IVS-I-5 caracteriza-se por uma substituição G>A na posição +5 do íntron I do mesmo gene, comprometendo o reconhecimento correto do local de *splicing*. A presença simultânea das duas mutações resulta em um déficit quase total na síntese das cadeias β , prejudicando a formação da Hb A e resultando em quadro clínico grave de β -talassemia. Devido os parâmetros hematológicos, hemoglobínicos e histórico transfusional, o paciente apresenta β -talassemia não dependente de transfusão, porém com frequentes necessidades transfusionais. **Conclusão:** A significativa variabilidade fenotípica observada em pacientes β -talassêmicos torna difícil prever a gravidade do quadro clínico apenas com base nos fatores genéticos, devido à complexidade das interações genéticas subjacentes aos fenótipos da β -talassemia. Assim, a identificação molecular do genótipo dos pacientes β -talassêmicos, associada a análises complementares e ao perfil clínico dos mesmos, são cruciais para fornecer terapia e aconselhamento adequados, dada a diversidade de manifestações clínicas e a necessidade de abordagens individualizadas de tratamento.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.082>

ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE POR ANTICORPO QUENTE ASSOCIADA À IMUNODEFICIÊNCIA DE LINFÓCITOS T CD4: UM RELATO DE CASO

CP Batista^a, ICR Diogo^a, GJ Almeida^a, LN Veloso^a, LB Saavedra^a, GF Marcelino^a, BPD Santos^a, KG Frigotto^a, EB Riscarolli^b, VRGA Valvieste^a

^a Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A anemia hemolítica autoimune (AHAI) por anticorpo quente é uma doença que leva à destruição acelerada de glóbulos vermelhos em função da presença de aglutininas, em sua maioria, imunoglobulina G (IgG), que se ligam a antígenos eritrocitários a uma temperatura de 37°C. Cerca de um terço dos casos de AHAI por anticorpos quentes são secundários a medicamentos ou outros distúrbios, dentre os quais, se incluem as imunodeficiências. **Apresentação do caso:** Paciente feminina, 45 anos, portadora de imunodeficiência primária de linfócitos T CD4, com história de micobacteriose atípica de repetição, tuberculose pulmonar e enteral há 7 anos, hipotireoidismo pós-radioiodoterapia para tratamento de doença de Graves, migrânea e deficiência de vitamina B12. Em uso de levotiroxina sódica 200 mcg/dia, pregabalina 75 mg/dia, azitromicina 500 mg/dia e moxifloxacino 400 mg/dia, além de reposição oral de vitamina B12. Foi encaminhada para acompanhamento semestral nos serviços de Hematologia e Rematologia de um hospital universitário para investigação de possível púrpura trombocitopênica imune (PTI) após alta de internação hospitalar por trombocitopenia grave (5000/mm³) manejada com corticoide e imunoglobulina, com resolução do quadro. Laboratorialmente, apresentou fator antinuclear reagente para padrão pontilhado fino denso (1/1320). No primeiro ano de acompanhamento, apresentou quadro de candidíase esofageana atribuída a uso de corticoide, tratada com itraconazol. Após dois anos, relatou fadiga, palidez cutânea e astenia progressiva e persistente. Na ocasião, os exames laboratoriais iniciais apresentaram hemoglobina (Hb) de 6,9 g/dL, volume corpuscular médio (VCM) de 126fL e contagem de reticulócitos de 21%. Em um segundo momento, foram, então, solicitados novos exames laboratoriais que revelaram Hb 5,8 g/dL, VCM 154fL, haptoglobina 31 mg/dL, enzima lactato desidrogenase 1527 U/L, contagem de reticulócitos de 47,1% e coombs direto positivo, que permitiu confirmar diagnóstico de AHAI por anticorpo quente. Foi iniciado tratamento com pulsoterapia de dexametasona 40 mg/dia por 4 dias, seguido de manutenção com prednisona e feito o desmame progressivo durante 8 meses, com boa resposta ao tratamento. Atualmente, segue em acompanhamento ambulatorial sem demais manifestações da doença até o momento. **Discussão:** A imunodeficiência de linfócitos T CD4 é uma condição que favorece a manifestação de doenças autoimunes. Anormalidades imunológicas comuns às imunodeficiências somadas a resposta inflamatória compensatória sustentada e excessiva, sobretudo, em vigência das infecções oportunistas, podem resultar tanto em danos teciduais quanto na manifestação da autoimunidade. Tal fato pôde ser observado no caso relato cuja paciente, em virtude de sua susceptibilidade à infecções de repetição, desenvolveu múltiplos casos de doenças autoimunes - dentre eles AHAI por anticorpo quente. **Conclusão:** Este estudo destaca a importância do diagnóstico de AHAI por anticorpo quente no contexto de imunodeficiência primária de linfócitos T CD4, que foi diagnosticada em vigência das múltiplas infecções de repetição. No caso, a paciente recebeu o devido suporte e evoluiu com controle da doença, seguindo até os dias de hoje aos cuidados multiespecializados necessários em decorrência do perfil da doença.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.082>