

rara. Os auto-anticorpos, na maioria monoclonais, da classe IgM e cadeia leve K destroem os eritrócitos via ativação do complemento, a 4°C. O TAD poliespecífico é positivo e mono-específico positivo para C3d, título de crioaglutinina ≥ 64 a 4°C e ausência de doença maligna na clínico e/ou radiológico. Sob baixas temperaturas, 90% manifestam acrocianose e fenômeno de Raynaud. Observa-se doença linfoproliferativa clonal medular: linfoma linfoplasmocitário, linfoma da zona marginal, linfoproliferação clonal não classificada e a linfocitose reativa, gamopatia monoclonal de significado indeterminado e macroglobulinemia. A Imunofixação sérica, quantificação de classe de imunoglobulina, citometria de fluxo e biópsia de medula óssea caracterizam o clone. Se negativos não excluem o diagnóstico. O manejo envolve medidas comportamentais, tratamento da infecção bacteriana, reduzir o conteúdo plasmático do hemotransfundido, a plasmaférese realiza o clearance do auto-anticorpo, uso de imunoterapia ao clone: anticorpo anti-CD20 isolado ou associado a fludarabina ou a bendamustina. O anticorpo monoclonal anti-C1s, inibe a via clássica do complemento. **Conclusão:** A CAD é uma AHA rara, com panaglutinação eritrocitária a 4°C, com diagnóstico laborioso e alta morbimortalidade na ausência de tratamento adequado.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.114>

PATHWAYS ALTERED DURING VASO-OCCLUSIVE EVENTS ARE AMELIORATED BY TREATMENT WITH HYDROXYUREA IN SICKLE CELL DISEASE

V Bhat^a, GC Gibson^a, VA Sheehan^b

^a Georgia Institute of Technology, Atlanta, United States

^b Emory University School of Medicine, Atlanta, United States

Background: Sickle cell disease (SCD) is an inherited multisystem blood disorder that produces sickle-shaped erythrocytes that obstruct blood flow, leading to severe clinical complications, including painful vaso-occlusive events (VOE). VOE are often initiated by adhesive interactions between sickle erythrocytes, leukocytes and endothelial cells. Hydroxyurea (HU), a disease-modifying therapy approved for pediatric and adult patients with SCD, increases fetal hemoglobin (HbF) levels, and has been demonstrated to reduce the frequency of pain crises. Much of the research into HU focuses on HbF induction; however, HU has many other effects, which can be investigated through transcriptomics. **Objective:** Describe transcriptome changes in erythroid precursor cells with VOE, and correlate these with pathways affected by treatment with hydroxyurea. **Methods:** Samples were obtained on an IRB approved protocol. CD71+ cells were collected using magnetic bead extraction from 141 patients with SCD during steady state or during hospitalization for a VOE. RNA-Seq was performed with a 101-base pair, paired-end protocol on a Nova-Seq 6000 instrument. The R package SNM was used to adjust for the effect of multiple covariates. Differential gene expression analysis was performed using limma; genes with a

Benjamini-Hochberg p-value < 0.05 were considered to be differentially expressed. The R package fgsea was used for gene set enrichment analysis with the Molecular Signature Database as reference. Whole-blood samples from 23 patients with SCD were collected before HU treatment (age < 21 years) and at the maximum tolerated dose of hydroxyurea (HU MTD). RNA-Seq was carried out with a 150 base pair, paired-end protocol. SNM was used to adjust for the effects of age, sex, and cell-type abundances on gene expression. Differential gene expression and biological pathway enrichment analyses of the pre- HU and HU-MTD samples were performed using limma and fgsea. **Results:** We performed gene expression profiling of CD71+ cells to determine differentially expressed genes between steady state and VOE; 373 genes were upregulated, and 68 genes were downregulated at VOE. Pathways associated with cell proliferation, such as G2M checkpoint, E2F targets and mitotic spindle were upregulated at VOE when compared to steady state. IL6 JAK STAT3 signaling and interferon alpha response pathways were elevated at VOE in comparison with steady state. Samples collected pre-HU versus HU-MTD revealed that 1563 genes were upregulated, and 561 genes were downregulated. Genes known for their anti-inflammatory effects, such as TNFAIP3 and ADORA2A, exhibited increased expression after treatment. HU downregulated genes associated with heme metabolism and interferon alpha response pathways. **Conclusions:** Samples collected during a VOE showed significant changes in the CD71+ transcriptome when compared with steady state. Multiple pathways linked to inflammation were elevated at VOE; these pathways are downregulated after treatment with HU, indicating that treatment with HU offers several benefits not directly linked to HbF induction that may reduce VOE severity.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.115>

MODULAÇÃO DA ATIVIDADE DE SUPERÓXIDO DISMUTASE PELA HIDROXICARBAMIDA EM PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME

SS Leão, LPR Venancio

Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB),
Barreiras, BA, Brasil

Objetivo: Este estudo teve como objetivo investigar a atividade da enzima antioxidante Superóxido Dismutase (SOD) em portadores de AF em uso e não uso de hidroxycarbamida (HC) e um grupo de indivíduos sem hemoglobinopatias, com a finalidade de avaliar a possível modulação do medicamento sobre uma via enzimática associada à homeostase redox. **Materiais e métodos:** Para tanto, foram investigados 43 indivíduos organizados do seguinte modo: 25 indivíduos portadores de AF que fizeram uso da HC; 12 indivíduos portadores de AF que não fizeram uso da HC e seis indivíduos saudáveis. O ensaio foi realizado utilizando o kit de atividade de SOD (Sigma-Aldrich), que determina a inibição da enzima xantina oxidase pela SOD, utilizando hemolisados preparados de amostras do sangue periférico dos participantes. Os grupos foram comparados por teste *one way* ANOVA, seguido de teste

de Tukey. As análises foram realizadas no programa Jamovi 2.3.28, e o nível de significância considerado foi de 5%. **Resultados:** A análise dos dados mostrou haver diferença na atividade da SOD entre os grupos amostrais ($p = 0,047$), com valores de inibição maiores em indivíduos com AF em uso de HC em relação ao grupo controle ($p = 0,022$). **Discussão:** Na AF, a mutação no 6º códon da beta-globina provoca uma condição fisiopatológica caracterizada pela grande produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN), que provocam desequilíbrio nas reações redox, gerando importantes efeitos deletérios. A SOD age diretamente sobre o ânion superóxido e, dessa forma, permite que essa espécie altamente reativa, seja convertida em peróxido de hidrogênio (que é menos reativo) e água. Atualmente, o tratamento da doença é feito utilizando a HC, um agente quimioterápico que induz o aumento nos níveis de hemoglobina fetal, reduzindo a polimerização da hemoglobina. Dados da literatura, utilizando células HUVEC e P BMC, sugerem que HU pode atuar diminuindo ERO/ERN e estimulando a expressão de genes antioxidantes, como por exemplo genes que codificam SOD, por meio da indução da via de sinalização de Nfr2. Há descrição na literatura da diminuição da atividade de SOD em pessoas com AF em relação a pessoas saudáveis. No entanto, os dados analisados aqui não indicam haver diferença na atividade desta enzima entre pessoas saudáveis e pessoas portadoras de AF em não uso de HU avaliadas. Possivelmente, isto se deve ao fato de que as amostras foram coletadas de pessoas com AF em estado estacionário da doença, o que pode implicar na melhor condição da resposta antioxidante nesses indivíduos. **Conclusão:** A partir dos dados encontrados, pode-se inferir que HU é capaz de interferir em processos relacionados ao estresse oxidativo em eritrócitos, ativando a resposta antioxidante, em especial a atividade de SOD, em pessoas com AF em uso do medicamento, o que podem estar relacionados aos efeitos benéficos da HU no contexto da AF. Avaliação da possível modulação da atividade de outros elementos da resposta antioxidante pela HU deve ser realizado para confirmação desta hipótese.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.116>

A ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMO DO GENE DO FATOR DE CRESCIMENTO DO ENDOTÉLIO VASCULAR COM A PRESENÇA DE ÚLCERA DE PERNA EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

MEC Bongiovani^a, BF Piellusch^a, GS Arcanjo^b, DM Albuquerque^a, GA Pedroso^a, MAC Bezerra^b, FF Costa^a, MNND Santos^a

^a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

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

Introdução e objetivos: A anemia falciforme é uma doença genética causada por uma mutação de ponto no gene que codifica a cadeia β da hemoglobina (Hb), que resulta na formação de HbS nos indivíduos homozigotos para a mutação.

Essa alteração torna as hemácias falcizadas, o que ocasiona as duas apresentações fisiopatológicas principais da anemia falciforme: crises vaso-oclusivas e anemia hemolítica crônica. Como manifestação clínica desse processo, destaca-se a úlcera de perna, que está associada com quadros mais graves da doença, além de ser um fator de risco de mortalidade precoce em pacientes com AF. No entanto, como os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no surgimento das úlceras de perna não são bem definidos, é necessário estudar possíveis fatores envolvidos. Assim, o objetivo desse estudo foi investigar a possível associação do polimorfismo rs833068 do gene VEGF com a presença de úlcera de perna em pacientes adultos com anemia falciforme, a fim de contribuir para um melhor entendimento fisiopatológico dessa manifestação clínica tão relevante e de possibilitar uma identificação e manejo precoce de pacientes mais propensos ao seu desenvolvimento. **Material e métodos:** A população estudada corresponde a 211 participantes acompanhados no Ambulatório de Hemoglobinopatias do Hemocentro de Pernambuco (HEMOPE), divididos em um grupo que já apresentou algum evento de úlcera de perna ($n = 102$) e outro grupo que nunca apresentou episódio dessa manifestação clínica ($n = 109$). As amostras de DNA foram utilizadas para análise do polimorfismo com a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa em tempo real (qPCR) utilizando ensaio TaqMan[®] SNP Genotyping Assays (ThermoFisher, Foster City, CA, EUA) e sequenciamento do DNA de 32 amostras para confirmação dos resultados. **Resultados:** A discriminação alélica de 191 amostras foi realizada. Dentre esses, 91 pacientes são do grupo com úlcera de perna, divididos em 39 (42,9%) homozigotos selvagens (GG), 47 (51,6%) heterozigotos (AG) e 5 (5,5%) homozigotos mutantes (AA), sendo o alelo mutante (A) correspondente ao polimorfismo rs833068 analisado. No grupo controle, foram 100 pacientes, sendo 37 (37%) homozigotos selvagens (GG), 54 (54%) heterozigotos (AG) e 9 (9%) homozigotos mutantes (AA). **Discussão:** A partir dos resultados, observa-se que há maior frequência de indivíduos heterozigotos para o polimorfismo em ambos os grupos analisados. No entanto, em relação aos homozigotos mutantes para o polimorfismo, há diferença entre os grupos, visto que, para os indivíduos com úlcera de perna, essa frequência foi de 5,5% dos pacientes, enquanto para o grupo controle foi de 9%. **Conclusão:** Os resultados mostram a distribuição dos genótipos e, após a análise estatística, será possível determinar a influência do polimorfismo rs833068 do gene VEGF no evento de úlcera de perna em pacientes com anemia falciforme e, assim, possibilitar melhor entendimento dessa manifestação clínica.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.117>

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA FOSFATIDILINOSITOL-FOSFATO QUINASE DO TIPO II (PIPKII α) EM AMOSTRAS DE INDIVÍDUOS ADULTOS E LACTENTES

LO Alves, D Malimpensa, FF Costa, GF Souza, SE Jorge

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil