

aplicação de questionário, auto preenchido por pacientes, através da plataforma Survey Monkey. O formulário foi aplicado, entre janeiro e junho de 2022, em pacientes com Talassemia cadastrados no banco de dados da Associação Brasileira de Talassemia (Abrasta). Os critérios de exclusão foram pacientes com cadastro incompleto ou pacientes que faleceram. As análises descritivas foram realizadas utilizando o software SPSS Statistics e os resultados foram expressos em porcentagem. **Resultados:** Foram incluídos no estudo 101 pacientes com talassemia beta, dos quais 79 possuíam talassemia maior e 22 tinham talassemia intermediária. Parte dos pacientes (44%) tiveram dificuldade para acesso aos medicamentos nos últimos doze meses, sendo falta de medicação (80%), espera até o centro de tratamento fornecer a medicação (16%) e dificuldades relacionadas à pandemia da Covid-19 (16%) as dificuldades mais frequentes. Quase todos (99%) pacientes realizam transfusão de sangue e 41% tiveram dificuldades para realizar o procedimento nos últimos doze meses, sendo a falta de sangue para a transfusão (83%) a maior dificuldade relatada, além de levar mais de uma hora (35%) para chegar ao centro transfusional e morar em outra cidade/estado (16%) as dificuldades mais acentuadas. Poucos pacientes (38%) possuem bomba de infusão de Desferal própria. Entre os pacientes que possuem o equipamento, 79% não realizam a troca há mais de 10 anos. Utilizar a mesma bomba infusora, por tanto tempo, é uma queixa comum dos pacientes (23%) e considerada como um problema por necessitar de manutenção frequentemente. A maioria (70%) dos pacientes estão satisfeitos com a bomba infusora, sendo esse percentual maior no sistema privado (88%) do que no Sistema Único de Saúde (55%). Além disso, muitos pacientes (83%) enfrentam dificuldades cotidianas por causa da Talassemia, nas quais dificuldade em conseguir um emprego (46%), preconceito (22%) e dificuldade em socializar (18%) são as mais frequentes. **Discussão:** A jornada do paciente com talassemia permitiu identificar os diversos desafios enfrentados durante o tratamento da doença. Alguns desafios enfrentados pelos pacientes, tais como acesso aos medicamentos e transfusão de sangue nos últimos doze meses, foram os mais pontuados na pesquisa, além da insatisfação e dos problemas encontrados por utilizar a mesma bomba infusora há muito tempo. **Conclusão:** Diante dos desafios destacados pelos pacientes, é necessário identificar estratégias e elaborar soluções para que, efetivamente, os pacientes com Talassemia realizem o tratamento com a garantia de acesso aos medicamentos e transfusões sanguíneas, bem como a manutenção da bomba infusora que é um dos tratamentos mais populares no Brasil.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.171>

#### ANÁLISE DO ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME EM USO DE HIDROXICARBAMIDA

DP Malerba<sup>a</sup>, DD Silva<sup>b</sup>, ABBD Santos<sup>a</sup>,  
CM Ayo<sup>b</sup>, CR Bonin-Domingos<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ciências Biológicas, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBLCE),

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

<sup>b</sup> Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) é observada no metabolismo humano naturalmente, e sofre ação de antioxidantes para proteção do organismo e equilíbrio do sistema REDOX. A hemoglobina S (HbS) é menos estável que a Hb A normal, provocando altas concentrações de ERO em indivíduos com anemia falciforme (AF), doença caracterizada pela homozigose da HbS. Esses indivíduos possuem estresse oxidativo crônico devido ao desequilíbrio entre as ERO e a proteção antioxidante. O principal tratamento para pacientes que possuem quadro clínico grave da AF é o uso de hidroxycarbamida (HU), que atua no aumento da hemoglobina fetal (HbF) diminuindo as concentrações de Hb S nas hemácias, promovendo também, melhora da inflamação e da hemólise. O objetivo deste trabalho foi analisar o estresse oxidativo, por meio do TBARS (espécies reativas do ácido tiobarbitúrico), em indivíduos com AF que faziam ou não uso de HU, comparativamente. Foram selecionados 169 indivíduos com genótipo HbSS (117 sem uso de HU e 52 com uso de HU), que foram comparados quanto ao valor de TBARS. Ambos os grupos foram analisados comparativamente também, a um grupo sem hemoglobinopatias, caracterizando assim os valores de normalidade para esse parâmetro ( $549 \pm 50$  ng/mL). Os indivíduos com AF em tratamento com HU apresentaram valor médio de TBARS de  $2.242 \pm 221,4$  ng/mL, enquanto os indivíduos que não faziam tratamento com HU apresentaram TBARS de  $3.018 \pm 232,2$  ng/mL. O grupo com AF que não fazia uso de HU apresentou valores de TBARS cinco vezes maiores do que o valor de normalidade, enquanto o grupo de AF que estava em tratamento com HU apresentou um aumento de quatro vezes nesses valores. Quando comparados entre si, os grupos de AF em tratamento com HU e o grupo sem tratamento com HU, apresentaram diferença estatística com valor de  $p = 0.0410$ , demonstrando menor estresse oxidativo nos indivíduos em tratamento com HU. Ao compararmos os dois grupos e seus níveis de gravidade, obtivemos 29,06% de indivíduos que não fazia uso de HU com quadro clínico leve, enquanto no grupo em tratamento com HU haviam 34,62% de indivíduos nesta mesma faixa. Com gravidade moderada, foram 46,15% de indivíduos sem tratamento e 38,46% em tratamento com HU. Os resultados mostram que o estresse oxidativo em pessoas que fazem uso de HU, apesar de elevado em comparação com os valores de normalidade, são menores que o estresse oxidativo em indivíduos que não fazem o uso do medicamento, confirmando assim, o potencial oxidativo da HbS.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.172>

#### AValiação da Expressão de Podoplanina e CLEC-2 na Doença Falciforme

IT Borb-Junior, MS Barbosa, I Santos,  
BD Benites, FF Costa, EV Paula

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

A hipercoagulabilidade é uma característica importante da doença falciforme (DF), e sua fisiopatologia está relacionada à ativação concomitante da hemostasia e da imunidade inata, em um processo conhecido como imunotrombose. Recentemente, estudos destacam a via podoplanina/CLEC-2 como importante no processo de ativação plaquetária e trombose. A podoplanina (PDPN) é uma proteína que já foi descrita em monócitos, e tem como único ligante conhecido a CLEC-2, expressa principalmente em plaquetas. Apesar do papel da via PDPN/CLEC-2 não seja totalmente esclarecida, evidências sugerem que ela pode se encaixar como uma nova via dentro do conceito de imunotrombose. O objetivo do estudo foi avaliar a expressão de PDPN e CLEC-2 em pacientes com DF e explorar sua relação com a gravidade da doença. Foram incluídos 31 pacientes com DF (genótipo SS=23; genótipo SC=8), além de 10 controles saudáveis, com aprovação ética (CAAE: 53121421.0.0000.5404). A avaliação da expressão de PDPN e CLEC-2 foram feitas por citometria de fluxo do sangue periférico de pacientes DF na fase estável da doença, além dos indivíduos saudáveis. Foram utilizados anticorpos anti-CD45, Anti-CD41, Anti-P-Selectina, Anti-PDPN e Anti-CLEC-2. O FSC (tamanho) e SSC (granulosidade) foi utilizado para separar as populações celulares. Para tal, foram analisados “gates” de células monocitárias e granulocíticas, e os resultados foram descritos como porcentagem. Os dados clínicos e laboratoriais foram obtidos dos prontuários eletrônicos. A expressão de PDPN em monócitos mostrou tendência a aumento nos pacientes DF-SS quando equiparados aos indivíduos saudáveis (teste Kruskal-Wallis [ $X^2$  (2) = 3,69;  $p$  = 0,156];  $p$  = 0,06, Bonferroni, post-hoc). Nas células granulocíticas não houve diferença na expressão de PDPN entre os grupos, teste Kruskal-Wallis [ $x^2$  (2) = 1,06;  $p$  = 0,58]. Já a expressão de CLEC-2 em monócitos foi diferente entre os grupos, teste Kruskal-Wallis [ $x^2$  (2) = 19,82;  $p$  < 0,0001], com os pacientes DF-SS apresentando aumento da porcentagem de expressão de CLEC-2 quando equiparados aos pacientes DF-SC ( $p$  = 0,03) e indivíduos saudáveis ( $p$  < 0,0001). Não observamos diferença entre os pacientes DF-SC e saudáveis ( $p$  = 0,57). Também observamos diferenças entre os grupos na expressão de CLEC-2 em granulócitos, teste Kruskal-Wallis [ $x^2$  (2) = 10,11;  $p$  = 0,006], com maior expressão em pacientes DF-SS quando comparados aos pacientes DF-SC ( $p$  = 0,02) e indivíduos saudáveis ( $p$  = 0,006). Houve correlação de monócitos PDPN<sup>+</sup> com marcadores laboratoriais, tais como: monócitos CLEC-2<sup>+</sup> ( $R$  = 0,646), monócitos P-Selectina<sup>+</sup> ( $R$  = 0,540), monócitos CD41<sup>+</sup> ( $R$  = 0,525), granulócitos PDPN<sup>+</sup> ( $R$  = 0,664) e reticulócitos ( $R$  = 0,434). Também houve correlação de monócitos CLEC-2<sup>+</sup> com marcadores laboratoriais, como: monócitos P-Selectina<sup>+</sup> ( $R$  = 0,823), monócitos CD41<sup>+</sup> ( $R$  = 0,720), granulócitos CLEC-2<sup>+</sup> ( $R$  = 0,884), hemoglobina ( $R$  = -0,533), plaquetas ( $R$  = 0,415) e reticulócitos ( $R$  = 0,563). Estes resultados sugerem que a via PDPN/CLEC-2 possa fazer parte da fisiopatologia da DF, de forma análoga a outras vias imunotrombóticas já descritas como a expressão de fator tecidual em vesículas extracelulares e a geração de NETs. Estudos para explorar o papel da mediação das interações plaqueta:leucócitos nestes resultados estão em andamento. Embora preliminares, nossos dados

representam a primeira avaliação da participação desta via da DF, que pode abrir caminho para novas estratégias prognósticas e terapêuticas para esta condição.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.173>

#### PIPKII $\alpha$ NA REGULAÇÃO DOS GENES DA HEMOGLOBINA HUMANA EM CÉLULAS KU812: ESTUDOS PRELIMINARES DE KNOCKDOWN DO GENE PIP4K2A E INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

D Malimpensa, JO Gonçalves, FF Costa, SE Jorge

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

**Introdução:** A regulação dos genes *HBE*, *HBG*, *HBD* e *HBB* da hemoglobina (Hb) é realizada pela região de controle do locus  $\beta$  ( $\beta$ -LCR), onde se ligam fatores de transcrição, como EKLF, ou repressores gênicos - quais BCL11A. Estudos demonstram que esta relação também possa ser influenciada por vias quais PTEN/AKT/mTORC1 e MAPK, bem como pela atuação epigenética da proteína de metilação UHRF1, reguladas por fosfoinositídeos das vias que envolvem as fosfatidilinositol-fosfato quinases. Estudos realizados pelo Laboratório de Hemoglobinopatias (FCM-Unicamp) apontam que o gene *PIP4K2A*, da fosfatidilinositol-fosfato-quinase-II-alfa (PIPKII $\alpha$ ), está altamente expresso em precursores eritróides CD34<sup>+</sup> e traz evidências de seu envolvimento na regulação da expressão dos genes *HBA*, *HBB* e *HBG* em modelos eritroleucêmicos K562 e KU812. **Objetivos:** Investigar os efeitos do silenciamento gênico de *PIP4K2A* bem como da inibição da atividade de PIPKII $\alpha$  na expressão e síntese de globinas. **Materiais e métodos:** Realizou-se ensaios de knockdown de *PIP4K2A* por CRISPR-Cas9 utilizando 2.5 $\mu$ g de vetores plasmidiais contendo as sequências de RNAs guias (gRNAs) complementares a *PIP4K2A*: 5-TTTTAACAAGTAAGTACAAG-3, 5-GATCCGAACATCGACGTCTA-3 (Genscript, EUA), transfectadas à linhagem KU812 (ATCC CRL-2099) por nucleofecção (4D Nucleofector X Unit - Lonza - Basileia, CH). Análise proteica por Western Blotting foi realizada após 72h de nucleofecção ( $n$  = 1) e a quantificação proteica relativa (em porcentagem-%) medida pelo programa ImageJ (National Institutes of Health, EUA). A viabilidade celular foi avaliada por azul de trypan 0,4% (Thermo Fisher Scientific, USA) ( $n$  = 3). Para os ensaios de inibição enzimática, as células KU812 foram tratadas com 50 $\mu$ M (12h) do inibidor de PIPKII $\alpha$  AG-82 (Santa Cruz Biotechnology, EUA) ( $n$  = 3). Análises de expressão gênica foram realizadas pelo método de comparação relativa (ddCT) à expressão dos genes *ACTB* e *GAPDH* a partir de ensaios de qRT-PCR (StepOnePlus - Applied Biosystem, EUA). Cálculos de significância estatística ( $p$  < 0,05) foram atribuídos pelos testes  $t$  (distribuição normal) ou Wilcoxon (sem distribuição normal) no programa SPSS (International Business Machines Corporation, EUA). **Resultados e discussão:** Experimentos de CRISPR-Cas9 resultaram na redução significativa da viabilidade celular de KU812 ( $p$  = 0.001; 72h/nucleofecção,  $n$  = 3), corroborando com dados de literatura acerca do papel desta