

ESTUDO FAMILIAL DE CASO DE HETEROZIGOSE COMPOSTA PARA HEMOGLOBINA KORLE-BU E BETA TALASSEMIA: RELATO DE CASO

GA Bernardino ^{a,b}, EP Noronha ^b, ACM Berti ^a, VS Ramos ^a, LA Souza-Junior ^a, AVC Aguiar ^b, E Belini-Junior ^a

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

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

Objetivo: Relatar um estudo familiar de probando com hemoglobina (Hb) Korle-Bu e β talassemia. **Material e métodos:** Amostras de sangue total do probando, sexo masculino, 8 meses e de seus progenitores (mãe com 31 anos e pai com 26 anos), provenientes do ambulatório do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão, foram enviadas ao Laboratório de Genética da UFMS/CPTL para diagnóstico molecular de perfil hemoglobínico inconclusivo. Foram realizados hemograma, reticulograma (ADVIA 2120i-Siemens Healthineers), análises bioquímicas (ARCHITECT ci4100-Abott), análises cromatográficas e análises moleculares (PCR-RE e sequenciamento do gene beta globina –HBB, sequenciador 3770xl DNA analyser). **Resultados:** O hemograma e reticulograma do probando, pai e mãe apresentaram respectivamente os seguintes parâmetros: E=5.95, 5.71, 5.40 milhões/mm³; Hb=11.2, 17.2, 12.0 g/dL; Ht=33.8, 49.7, 38.6%; VCM=56.8, 87.0, 71.4 fL; HCM=18.8, 30.0, 22.2 pg; CHCM=33.0, 34.5, 31.0%; RDW=18.5, 13.5, 17.1%; Reticulócitos=38.500, 34.300, 92.100/mm³; CHr=20.4, 31.7, 25.4 pg; VCMr=72.8, 106.3, 91.0 fL. Os resultados das dosagens de ferro sérico, ferritina, índice de saturação da transferrina do probando foram respectivamente: 57 ug/dL, 15.6 ng/mL, 21%. O perfil cromatográfico do probando indicou Hb Variante com tempo de retenção relativo (RRT) a Hb A₂ (70.2%), Hb F (18.0%) e Hb A₀ (5.7%). A cromatografia do pai apontou a presença de Hb A₀ (47.9%) e Hb Variante (43.5%) com RRT de Hb A₂. A sobreposição de picos entre Hb Variante e Hb A₂ impossibilitou a quantificação da Hb A₂ do probando e pai. A mãe apresentou Hb A₀ (84.4%), Hb F (0.6%) e aumento de Hb A₂ (5.3%). As análises moleculares detectaram a presença de um alelo com a mutação HBB: c.220G>A (Hb Korle Bu) para o pai e mutação HBB:c.92+5G>A (β^+ grave talassemia IVS-I-5) em heterozigose para a mãe. Por fim, as análises moleculares do probando confirmaram a dupla heterozigose no gene HBB, formada pela presença de um alelo mutante para Hb Korle-Bu e de outro para talassemia β^+ grave IVS-I-5. **Discussão:** A análise do hemograma do probando e da mãe não indicou anemia para a idade, mas revelou anisocitose com intensa microcitose. O hemograma do pai não apresentou alterações. O reticulograma do probando, pai e mãe não mostrou aumento absoluto na contagem de reticulócitos, no entanto, o VCMr do probando e da mãe estava diminuído. O perfil de ferro do probando não apresentou alterações, excluindo a possibilidade de deficiência de ferro e avaliado com o perfil do eritrograma, suspeitou-se de uma hemoglobinopatia quantitativa. A análise cromatográfica do probando revelou um perfil hemoglobínico inconclusivo. Contudo, com base na observação do eritrograma do

probandando e nos cromatogramas dos progenitores, em que a mãe possui um aumento de Hb A₂ e o pai com presença de heterozigose para Hb Variante, concluiu-se tratar-se de uma provável β talassemia (herdada da mãe) em heterozigose composta com uma Hb Variante (herdada do pai) não identificável por HPLC. As análises moleculares foram realizadas para o diagnóstico confirmatório, com a presença de mutações correspondentes a Hb Korle-Bu e talassemia β^+ grave IVS-I-5. **Conclusão:** A combinação de diferentes metodologias laboratoriais, especialmente as técnicas de biologia molecular, foi essencial para o diagnóstico preciso deste caso complexo, evitando interpretações errôneas e tratamentos inadequados.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.094>

INFLUENCE OF CD36 RS3211938 POLYMORPHISM ON HDL LEVELS IN BRAZILIAN SICKLE CELL ANEMIA PATIENTS

JO Rios ^a, S Azouzi ^b, CC Lobo ^c, CR Bonini-Domingos ^a

^a Laboratory of Hemoglobins and Genetics of Hematologic Diseases, Institute of Biosciences, Humanities and Exact Sciences, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São José do Rio Preto, SP Brazil

^b Inserm U1134, Integrated Biology of Red Blood Cells, Université Paris Cité, Inserm, Paris, France

^c State Health Department, Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio), Rio de Janeiro, Brazil

Introduction: Patients with sickle cell anemia (SCA) often exhibit reduced levels of high-density lipoprotein (HDL), which may be attributed to factors such as chronic inflammation, hemolysis, and oxidative stress. The CD36 gene, particularly the SNP rs3211938, regulates fatty acid metabolism and has been shown in other conditions, such as diabetes mellitus, to affect HDL levels. Alterations in lipid profiles and HDL functionality may potentially increase cardiovascular risk in individuals with SCA. **Objective:** This study aimed to investigate whether CD36 gene polymorphisms influence HDL levels in SCA patients. **Material and methods:** A Brazilian cohort of 190 patients with SCA was included, comprising 92 men and 98 women, with a mean age of 25.5 years (ranging from 15 to 56 years). All participants were confirmed as HbSS through high-performance liquid chromatography and molecular analysis. DNA was extracted from leukocytes obtained from total blood using the phenol/chloroform method. Genotyping of the CD36 gene was performed using the TaqMan assay. The association between genotypes and HDL levels was assessed using analysis of variance (ANOVA) to identify significant differences in HDL levels among different genotypes. Tukey's multiple comparison test was subsequently applied to determine which genotype pairs showed significant differences in HDL levels. All statistical analyses were conducted using RStudio, with the significance level set at $p < 0.05$. **Results:** Genotyping revealed that 171 individuals carried the

wild-type allele TT, 4 carried the mutant allele GG, and 15 carried the TG allele. Hardy-Weinberg equilibrium analysis showed allele frequencies of 0.93 for TT and 0.07 for GG, with a χ^2 value of 17.7. ANOVA demonstrated a significant difference in HDL levels among the genotypes ($F(2, 105) = 4.163$, $p = 0.0182$). Tukey's test revealed that the mean difference in HDL levels between the TG and GG genotypes was 300.75, with a 95% confidence interval (CI) ranging from 20.42 to 581.08, indicating a significant difference ($p = 0.0324$). However, no significant differences were observed in HDL levels between the TT and GG genotypes (mean difference of 173.78; 95% CI: -79.50 to 427.05; $p = 0.2371$) or between the TT and TG genotypes (mean difference of -126.97; 95% CI: -257.36 to 3.41; $p = 0.0580$). **Discussion:** The observed increase in HDL levels in individuals with the TG genotype may indicate a positive modulation of HDL functionality, which is particularly relevant for the SCA population given their predisposition to an adverse lipid profile and increased cardiovascular risk. The lack of significant differences in HDL levels between the TT and GG genotypes or the TT and TG genotypes suggests that the presence of the G allele, even in heterozygosity, may be sufficient to positively influence HDL levels. These findings align with previous studies implicating CD36 polymorphisms in altering lipid levels, particularly HDL, in other clinical conditions. **Conclusion:** Our findings suggest that the rs3211938 polymorphism in the CD36 gene may play a significant role in determining HDL levels in SCA patients, particularly by increasing levels in individuals with the TG genotype. This discovery may have important implications for clinical management and the development of therapeutic strategies aimed at improving lipid profiles and reducing cardiovascular risk in this specific patient population.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.095>

CLASSIFICAÇÃO MOLECULAR DE TALASSEMIA BETA HETEROZIGOTA EM UM GRUPO DE PESSOAS COM ANEMIA MICROCÍTICA E HIPOCRÔMICA

RB Batista, LP Ramos, CR Bonini-Domingos

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

Introdução/Objetivos: A condição conhecida como traço talassêmico ocorre quando os genes que expressam a talassemia são herdados de somente um dos genitores, sendo conhecida como uma anemia microcítica e hipocrômica (AMH). Dentre os tipos de AMH mais prevalentes estão a anemia ferropriva e a talassemia beta menor, sendo que a última apresenta laboratorialmente aumento de Hb A₂. O objetivo do estudo foi diferenciar as anemias microcíticas e hipocrômicas (AMH) por anemia ferropriva e por talassemia beta menor, e estabelecer quais as mutações mais comuns no Estado de São Paulo. **Materiais e métodos:** Foram avaliados 600 indivíduos com anemia microcítica e hipocrômica, adultos, de ambos os sexos, do Estado de São Paulo, por meio de valores de hemograma e

índices hematimétricos. Desse grupo foram separados os que apresentarem suspeita de talassemia beta, e avaliados por HPLC, para obtenção dos valores de Hb A₂ e Fetal, e por PCR-AE para a caracterização das mutações. **Resultados:** A partir do cálculo dos índices matemáticos 97 indivíduos apresentaram indicativo de anemia ferropriva e 503 beta talassemia heterozigota. Desses 503 indivíduos, um total de 413 apresentaram Hb A₂ elevada. Nesse grupo foram identificados 217 indivíduos do sexo feminino e 146 indivíduos do sexo masculino. Dentro dos 413 indivíduos foi possível identificar 17 com a mutação CD-39; 15 com a mutação IVS-I-6; e 6 com a mutação IVS-I-110. **Discussão:** A mutação IVS-I-6 é mais frequente no Nordeste e Sudeste, IVS-I-1 no Sul e Nordeste e IVS-I-110 e CD-39 no Sudeste e Sul, segundo a literatura. A maior ocorrência da mutação CD-39 na população estudada está relacionada ao quadro clínico comum encontrado em portadores de AMH, concentração de Hb e valores de HT e VCM abaixo do esperado para normalidade, e responde adequadamente à formação populacional do Estado de São Paulo. **Conclusão:** Das mutações estabelecidas por PCR-AE no Estado de São Paulo, a maior ocorrência da mutação CD-39 caracteriza o esperado para a população do Sudeste do Brasil.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.096>

AUMENTO DA EXPRESSÃO DE CLEC-2 EM AGREGADOS LEUCÓCITO-PLAQUETA E SUA CORRELAÇÃO COM MARCADORES CLÍNICOS E LABORATORIAIS DE GRAVIDADE NA DOENÇA FALCIFORME

IT Borba-Junior, MS Barbosa, CRP Moraes,
LQ Silva, BD Benites, J Annichino-Bizzacchi,
FF Costa, EV Paula

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

A hipercoagulabilidade é uma característica marcante da doença falciforme (DF), e sua fisiopatologia está associada à ativação simultânea da hemostasia e da imunidade inata, em um processo denominado imunotrombose. Estudos destacam que a formação de agregados leucócito-plaquetas (AglP) é um processo importante na ativação plaquetária e da hemostasia. Recentemente, o receptor de plaqueta do tipo lectina 2 (CLEC-2) juntamente com seu ligante, podoplanina (PDPN), foi associado como uma via importante nesse contexto. Assim, sugere-se que a interação dos AgLP e a via PDPN/CLEC-2 possa ser um compartimento importante do estado pró-trombótico da DF. O objetivo do estudo foi avaliar a formação dos AgLP que expressam CLEC-2 em pacientes com DF e correlacionar com a gravidade da doença. Nesse estudo foram incluídos 31 pacientes com DF (genótipo SC = 8; genótipo SS = 23), e 10 indivíduos saudáveis (CAAE: 53121421.0.0000.5404). A avaliação foi realizada por citometria de fluxo do sangue periférico de pacientes DF no período estável da doença, além dos controles. Foram utilizados anticorpos anti-CD45 (leucócitos), anti-CD41 (plaquetas), anti-CD62p (P-selectina), anti-PDPN e anti-CLEC2. Para separar as populações celulares foi utilizado FSC (tamanho) e SSC (granulosidade), e os resultados foram descritos como porcentagem. Tanto os dados