

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

clínicos como laboratoriais foram obtidos através de fichas eletrônicas, e para avaliação dos parâmetros clínicos, foram utilizadas as variáveis: crise vaso-oclusiva (VOC) no último ano, histórico de AVC e/ou TEV, e osteonecrose (ON). A expressão em monócitos CD41+CLEC2+ teve diferença entre os grupos, teste Kruskal-Wallis [$X^2(2) = 19,9$; $p < 0,0001$], os pacientes DF-SS e DF-SC tinham expressão aumentada quando comparado aos indivíduos saudáveis ($p < 0,0001$; $p = 0,01$, respectivamente), não observou diferença entre os pacientes DF-SS e DF-SC ($p = 0,99$, Bonferroni, post-hoc). Na expressão de granulócitos CD41+CLEC2+ também observou diferença entre os grupos [$X^2(2) = 11,6$; $p = 0,003$], os pacientes DF-SS tinham um aumento da porcentagem quando equiparados aos indivíduos saudáveis ($p = 0,002$), não houve diferença entre DF-SS e DF-SC ($p = 0,99$), e DF-SC e indivíduos saudáveis ($p = 0,07$). Em relação aos parâmetros clínicos, os granulócitos CD41+CLEC2+ estavam elevados no grupo com ON quando comparados ao grupo sem ON ($p = 0,02$), bem como tinha uma tendência de estar elevado nos pacientes com VOC ($p = 0,06$). A expressão de monócitos CD41+CLEC2+ estava elevada nos pacientes que tiveram AVC/TEV quando equiparados aos que não tiveram AVC/TEV ($p = 0,04$). Na avaliação dos parâmetros laboratoriais, a partir da variável monócitos CD41+CLEC2+ observou correlação com hemoglobina ($R = -0,507$), reticulócitos ($R = 0,445$), RDW ($R = 0,599$), D dímero ($R = 0,643$), FvW: Antígeno ($R = 0,495$), granulócitos CD41+CLEC2+ ($R = 0,850$), monócitos CLEC2+CD62P+ ($R = 0,760$) e monócitos PDPN+ ($R = 0,494$). Atualmente, poucos estudos relatam a avaliação de AgLP na DF, apesar da associação dos AgLP com a fisiopatologia da VOC ter sido demonstrada em modelos animais, tais achados não foram explorados em estudos clínicos. Além disso, nenhum trabalho relatou a associação dos AgLP com a via PDPN/CLEC-2. Assim, sugere-se que os AgLP que expressam CLEC-2 possa ser um mecanismo importante associado a hipercoagulabilidade na DF, uma vez que correlacionou com marcadores clínicos e laboratoriais.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.097>

THE INFLAMMASOME DRIVES MICROVASCULAR IMPAIRMENT IN MOUSE MODELS OF INTRAVASCULAR HEMOLYSIS

PL Brito, EMFG Azevedo, LFS Gushiken,
FC Leonardo, FF Costa, N Conran

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),
Campinas, Brazil

Introduction: Intravascular hemolysis (IVH) results in the release of damage-associated molecular patterns (DAMPs) into the circulation, particularly hemoglobin (Hb) and heme, which can trigger NLRP3 inflammasome activation and a sterile inflammatory response. Complications of hemolytic diseases include thrombosis, inflammation, and organ damage. In sickle cell disease (SCD), IVH can lead to vaso-occlusive crises and ischemic complications such as cutaneous leg ulcers, acute chest syndrome, and multiorgan infarction. **Aim:** To investigate the in vivo effects of inflammasome formation on microvascular function and its role in the pathophysiology of hemolytic conditions. **Methods:** We utilized two murine

models to simulate intravascular hemolysis: an acute model where C57BL6 mice received osmotic stress (150 μ l sterile water, i.v. -HEM); and a chronic model induced by repeated low doses of phenylhydrazine (10 mg/kg, i.p. -CHEM). Control mice received saline under similar conditions. Microvascular dysfunction was assessed by laser Doppler fluxometry (LDF) in the skin of the pelvis and by intravital microscopy of the cremaster muscle. Inflammasome activation was evaluated via flow cytometry measurement of caspase-1 (casp-1) activity, measurement of interleukin (IL)-1 β and IL-18 release by ELISA, and NLRP3 protein expression in the liver using western blot. **Results and discussion:** Our findings show that acute hemolysis immediately increased plasma cell-free Hb and heme levels in HEM mice, along with decreased Hb scavenger haptoglobin (Hp). CHEM mice also displayed a significant depletion of hemopexin (Hx), indicating the persistent removal of this heme-neutralizing protein. These results confirm that these mouse models effectively mimic acute and chronic hemolytic stress. Acute IVH resulted in microvascular dysfunction characterized by a vaso-occlusive-like process, as demonstrated by an increase in rolling, adherent, and extravasated leukocytes. The blood flow velocity of HEM mice was reduced in the microcirculation, resulting in impaired tissue blood perfusion. These findings were accompanied by increased casp-1 activity in peripheral monocytes and elevated levels of IL-1 β and IL-18, all hallmarks of inflammasome formation, suggesting that inflammasome assembly during hemolytic stress contributes to tissue microcirculation dysfunction. While acute hemolysis caused microvascular defects and impaired blood perfusion in mice, chronic hemolysis significantly affected the liver, leading to an increase in the macrophage population, which displayed elevated active casp-1 and increased NLRP3 protein expression. Next, we investigated whether the NLRP3 inflammasome contributes to hemolysis-induced microvascular pathology. As expected, casp-1 activation was reduced by the NLRP3 inhibitor, MCC950, in both the neutrophils and monocytes of HEM mice. Moreover, NLRP3 inflammasome inhibition reduced leukocyte recruitment to the venule walls of HEM mice, indicating an improvement in hemolysis-induced microvascular dysfunction. This was further corroborated by LDF, which showed improved blood perfusion in the skin of MCC950-treated HEM mice. **Conclusion:** These results demonstrate that NLRP3 inflammasome assembly, in response to hemolysis, compromises microvascular function by modulating leukocyte adhesion to the endothelium and impairing blood flow to tissues, which could contribute to clinical complications in hemolytic disorders such as SCD.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.098>

ANEMIA HEMOLÍTICA POR DEFICIÊNCIA DE FOSFATO ISOMERASE: UM RELATO DE CASO

ACB Bomfim, WWF Costa, MM Dias,
MG Duarte, GG Heck, JF Lopes, BL Souza,
MJS Vasconcelos, I Ribeiro

Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP,
Brasil