

^a Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil

^b Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (PPGH-UEA), Manaus, Brazil

^c Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada (PPGIBA), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil

^d Universidade Nilton Lins (UNL), Manaus, Brazil

^e Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Governador Valadares, Brazil

Objectives: This study aimed to evaluate the effect of HU therapy on the expression of inflammatory cytokines, in addition to molecularly characterizing the promoter regions of the cytokines IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-18 and TNF- α in patients with sickle cell anemia (SCA). **Materials and methods:** In the study were included SCA patients in use and without HU treatment during outpatient care performed periodically at HEMOAM and a healthy control group of blood donors. All participants underwent venipuncture to collect 5mL of peripheral blood in a tube containing EDTA anticoagulant. The cytokines of both groups were measured using the Luminex KIT (The Bioplex-Pro Human Cytokine 27-Plex Kit from Bio-Rad); DNA extraction by the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen); Genetic sequencing was performed using the SANGER method by Applied Biosystems™3500 Automatic Sequencer. Statistical analyses were performed using the SPSS vs21 and Prism vs9 programs, with p-values < 0.05 considered significant. **Results:** A total of 214 SCA patients and 240 healthy controls (AA) participated in the study. Females were predominant in patients (62.15%), while males were predominant in controls (74.17%). Brown race was predominant in both SS (69.16%) and AA (72.5%) groups. The mean age of patients was 16.23 $\pm$ 8.51 years, while the mean age of donors was 32.2 $\pm$ 13. Plasma concentrations of all cytokines were significantly higher in patients than in controls (p < 0.001). The most frequent SNPs found in both cases and controls were IL-1 β c.-31 C>T; IL-1 β c.-511 T>C; IL-6 c.-174 G>C; IL-6 c.-572 G>C; IL-8 c.-251 A>T; IL-10 c.-592 C>A; IL-10 c.-819 C>T; IL-18 c.-137 C>G; IL-18 c.-607 C>A; TNF- α c.-308 G>A. The SNP IL-1 β c.-31C was significantly more prevalent in SCA patients (p = 0.030 - OR: 1.96 - CI: 1.10-3.48), while IL-8 c.-251AA (p = 0.020 - OR: 0.45 - CI: 0.23-0.89) and IL-18C c.-607CC (p = 0.034 - OR: 0.52 - CI: 0.28-.95) were significantly more prevalent in healthy donors. A significant association between HU treatment was found only of c.-251AA - IL-8 genotype (p = 0.004 - OR: 0.22 - CI: 0.07-0.66), being more prevalent in those without HU use, presenting itself as a protective factor. **Discussion:** Our results showed that females were more prevalent in patients with AF, corroborating regional studies and studies from other Brazilian states. As expected, males were more prevalent among blood donors, corroborating several national studies. The higher plasma concentrations of all cytokines in patients is clearly due to the constant inflammatory state that these patients have. **Conclusion:** Although all SNPs found in our study have been demonstrated in other studies carried out with SCA patients, we were able to demonstrate for the first time the genotype (IL-8 (c.-251AA) as a possible important modulator for the

prevalence of complications in SCA patients. We understand that molecular analyses of inflammatory genes may be a strategy for better understanding the heterogeneity found in patients with and their use of Hydroxyurea.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.138>

ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE COM COOMBS DIRETO NEGATIVO: UM RELATO DE CASO

BPD Santos, GJ Almeida, JVFA Cordeiro, LM Salla, CP Batista, VL Abreu, ICR Diogo, KG Frigotto, E Bruno-Riscarolli, VRGA Valviesse

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

Introdução: A anemia hemolítica autoimune (AHA) consiste na destruição prematura dos eritrócitos devido à autoanticorpos que se ligam às suas membranas. Pode ser subdividida em dois tipos principais com base na temperatura de reatividade dos anticorpos: quente e frio. Quanto aos achados clínicos, estes são variados e podem oscilar de leves a graves dependendo dos níveis de hemoglobina, da presença de comorbidades e do grau de atividade da doença. O teste de Coombs direto é essencial para confirmar a etiologia autoimune da anemia e o monitoramento contínuo inclui também a avaliação dos níveis de lactato desidrogenase (LDH).

Apresentação do caso: Paciente do sexo feminino, 34 anos, com histórico prévio de pênfigo vulgar não tratado, leiomioma uterino com metrorragia recorrente e osteoporose tratada com cálcio, vitamina D e denosumabe, além de cirurgia bariátrica há cerca de um ano com terapia com ferro intravenoso até então. Apresentava astenia e exames prévios apresentavam anemia moderada de caráter microcítico e hipocrômico. Novos exames laboratoriais indicaram anemia moderada (hemoglobina 9,1 g/dL) com reticulocitose (11,7%), haptoglobina inferior a 8, aumento de LDH (440 U/L), bilirrubina indireta no limite superior de normalidade, ferro sérico 92 mcg/dL e ferritina 209 ng/mL, sugerindo anemia hemolítica. Foi realizada imunofenotipagem para hemoglobinúria paroxística noturna, com resultado negativo. O teste de Coombs direto também foi negativo e se manteve negativo em todos os laboratórios mensais posteriores realizados. Eletroforese de proteínas revelou hipogamaglobulinemia com curva de fragilidade osmótica negativa. Foi iniciada prednisona em dose imunossupressora, azatioprina 50 mg/dia e ácido fólico 10 mg/dia. Cerca de 4 meses depois, houve melhora para níveis normais de hemoglobina, reticulócitos, LDH, haptoglobina e bilirrubina indireta, porém manteve ferro sérico baixo e saturação de transferrina inferior a 6%. Devido à resposta favorável à corticoterapia, reduziu-se a prednisona para 10 mg e a azatioprina para administração em dias alternados, visando a atenuar a vertigem secundária à segunda medicação. Além da administração de ferro intravenoso para correção da ferropenia associada, foi mantida suplementação diária de ácido fólico. **Discussão e conclusão:** Embora a anemia hemolítica não seja uma condição rara, a falta de evidências no teste de Coombs direto em um cenário sugestivo de

anemia hemolítica autoimune é extremamente incomum. No entanto, marcadores de hemólise identificados nos exames laboratoriais juntamente com a exclusão de possíveis causas hereditárias podem corroborar com essa hipótese. Além disso, a melhora clínica observada com o uso de corticoterapia em dose imunossupressora, conforme preconizado na literatura, reforça essa associação. Este caso enfatiza a importância de relatar apresentações atípicas de doenças bem estabelecidas, especialmente quando há uma resposta positiva ao tratamento padrão. Além disso, este relato enfatiza a necessidade de considerar a AHAI ao diagnóstico mesmo na presença de resultados negativos no teste de Coombs direto.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.139>

BLOOD MARKERS RELATED TO INTRAVASCULAR HEMOLYSIS AND PAIN CRISES IN SICKLE CELL ANEMIA

LR Pereira, PPD Nascimento, CRB Domingos

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

Introduction: Sickle cell anemia (SCA) is a hereditary hematologic disorder resulting from the homozygous inheritance of hemoglobin S (Hb S). It is characterized by the polymerization of Hb S, which in turn causes an acute inflammatory state, chronic hemolytic anemia, vaso occlusive crises and other complex clinical manifestations. Intravascular hemolysis (IH) is considered a risk factor for severe clinical conditions in SCA due to the release of cell-free plasma Hb and its toxic effects. Also, one of the major clinical features of SCA is a acute pain crisis, which may lead to hospitalization due to the urgent need of intravenous treatment using opioids. This study aimed to evaluate the hemolytic profile as a risk factor for painful crises in SCA individuals. **Material and methods:** A total of 103 SCA patients in a steady state of the disease were included. Diagnosis confirmation occurred using classical analysis and the HPLC equipment Ultra 2[®] from Trinity Biotech. Hematological and hemolytic parameters were analyzed, and plasma cell-free Hb levels were quantified. Patients were stratified into two groups based on the frequency of painful crises in the past year (0-2 crises and ≥ 3 crises). **Results and discussion:** Cell-free plasma hemoglobin (Hb) levels were significantly higher in individuals experiencing three or more pain crises annually, while other markers showed no significant differences. Hematological parameters, though out of normal range, were consistent across subgroups, indicating chronic hemolytic anemia. Positive correlations were found between plasma Hb levels and reticulocyte percentage ($r=0.769$; $p < 0.001$), as well as enzyme levels of AST ($r=0.329$; $p=0.001$) and LDH ($r=0.772$; $p < 0.001$), with reticulocyte percentage having the strongest influence. The study underscores the role of cell-free plasma Hb levels as a direct marker of intravascular hemolysis (IH) and a potential prognostic parameter. Correlations with reticulocyte count and enzyme levels, particularly LDH and AST, further validate the importance of

these markers in characterizing hemolytic profiles. Unconjugated bilirubin (UCB) did not correlate with plasma Hb levels but remains relevant in assessing extra-vascular hemolysis. **Conclusion:** Our study reinforces the critical role of plasma hemoglobin (Hb) as a marker of intra-vascular hemolysis (IH) in sickle cell anemia (SCA), particularly in relation to the frequency of painful crises. The significant correlation between plasma Hb levels and reticulocyte count, as well as with the enzymes LDH and AST, highlights the utility of these parameters in assessing hemolytic severity and guiding clinical management. Although unconjugated bilirubin (UCB) did not show a correlation with cell-free plasma Hb levels, it remains a valuable marker for extra-vascular hemolysis. These findings suggest that a comprehensive approach, incorporating both intra-vascular and extra-vascular hemolytic markers, is essential for understanding and managing the hemolytic profile in SCA. Further research, including genetic factors such as Hb F levels and βS haplotypes, could provide deeper insights into the variability of clinical outcomes and aid in the development of personalized treatment strategies. Monitoring and addressing hemolytic markers could offer significant benefits in reducing the frequency and severity of painful crises, ultimately improving the quality of life for SCA patients.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.140>

TERAPIA CLÍNICA DA COLESTASE INTRA HEPÁTICA AGUDA NA ANEMIA FALCIFORME: UM RELATO DE CASO

IT Melo, RC Cavalheiro, LMB Silva,
FP Gonçalves

Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP, Brasil

A colestase intra-hepática aguda (CIHA) representa uma complicação rara e grave da anemia falciforme (AF). Sua fisiopatologia consiste em falcização intra-sinusoidal, hipoxemia e isquemia dos hepatócitos com consequente edema dos hepatócitos e colestase intracanalicular, resultando em hepatomegalia e leucocitose, podendo desenvolver icterícia, disfunção renal, diátese hemorrágica e encefalopatia. O tratamento da CIHA consiste na transfusão de troca, tendo a eritrocitafereze maior segurança que a transfusão de troca manual devido à isovolemia no procedimento e resultados mais precisos de hematócrito e hemoglobina S (HbS). **Objetivos:** Relatar caso de tratamento clínico de colestase intra-hepática aguda em paciente com AF. **Métodos:** Trata-se de estudo descritivo, retrospectivo com aquisição dos dados em prontuário eletrônico, após consentimento do paciente. **Relato de caso:** Feminino, 42 anos, sem demais comorbidades, iniciou quadro de dor abdominal, náuseas, vômitos e icterícia há 1 semana, evoluindo com confusão mental, urina escurificada e hematomas extensos em membros superiores. À admissão apresentava Hb: 5,5, plaquetas 45.000, BT: 60 (BI: 33, BD: 27), INR: 2,7, acidose metabólica (pH:7,24/ HCO₃:14,2), Cr: 1,7, UR:196, FA: 257, DHL: 1360, TGO: 67, TGP: 14. Tomografia de abdome evidenciava fígado de dimensões aumentadas, sem alterações obstrutiva e exames negativos para hepatites