

the hemolytic and vasculopathy subphenotypes in sickle cell anemia (SCA) patients. **Methodology:** The study was performed with 297 SCA patients (median age 30 years, range 6 to 66 years, 171 males, 57.6%), enrolled and regularly followed in a reference center in northeast Brazil. Clinical and laboratory data were obtained from medical records. Patients were divided into subgroups according to clinical complications. The control group was patients without complications. Peripheral blood samples from all patients were collected, and genomic DNA was extracted using the phenol-chloroform protocol. The SCA genotype was confirmed with PCR followed by restriction analysis with Dde I, and alpha thalassemia ( $-\alpha^{3.7kb}$ ) mutation was detected with GAP-PCR. MAGL (rs604300, A>G), FAAH (rs324430, C>A), CNR1 (rs7766029, T>C), and CNR2 (rs35761398, TT>CC) polymorphisms were genotyped using TaqMan assays. **Results:** Overall, 73 patients developed stroke (24.6%), 80 of the men presented priapism (46.8%), and 144 (48.5%) were assigned as the control group (for priapism,  $n = 58$ ). Regarding clinical and laboratory data, gender, total hemoglobin (Hb), reticulocyte count, indirect bilirubin, and lactate dehydrogenase were not associated with clinical complications. Lower levels of Hb F (%) were associated with stroke (stroke,  $Hb F 5 \pm 3.3\%$  vs. control group,  $Hb F 9.6 \pm 5.6$ ,  $p < 0.0001$ ), and the non-mutated genotype for  $-\alpha^{3.7kb}$  was associated with priapism ( $p < 0.0001$ ). Due to a better fit of data, the overdominant model of inheritance was adopted for all SNPs. The TT-CC genotype for CNR2 SNP (33 [42.3%] in the priapism group and 31 [53.4%] in control) was independently associated with priapism, even when  $-\alpha^{3.7kb}$  was included as a confounder (OR=0.386 [0.175 – 0.854],  $p=0.019$ ). No statistical association was found for the other SNPs analyzed. **Discussion:** SCA is an inherited disease characterized by the homozygous genotype of HBB:c.20 T>A mutation, which encodes Hb S. The main determinant of SCA severity is the Hb S polymerization level, leading to hemolysis, vasculopathy, vaso-occlusion, and an inflammatory state. In a quest for new insights into the pathophysiology and therapies in SCA, the ECS posts as a potential candidate once it demonstrates a significant role in several biochemical and physiological pathways of clinical interest. The receptor cannabinoid 2 (CB2), encoded by the CNR2 gene, is mainly expressed in immune cells and plays a crucial role in the regulation of the immune system. Activation of CB2 receptors exerts potent anti-inflammatory effects, reducing the production of pro-inflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  and reducing leukocyte infiltration and migration, decreasing tissue damage and inflammation. In our study, the lower chance of developing priapism associated with the TT-CC genotype for CNR2 demonstrates a potential CB2 effect in regulating SCA complications by modulating inflammation. **Conclusion:** The genetic and biochemical basis of SCA complications still needs to be completed, and searching for new predictors is essential. Based on CB2 functions and our findings, this gene represents a potential candidate for modulating SCA pathophysiology. Now, it's important to find out how this modulation functionally occurs.

#### ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO F352V (RS9536314) DO GENE KL NO DESENVOLVIMENTO DE COMPLICAÇÕES CLÍNICAS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ANEMIA FALCIFORME

ABS Araújo<sup>a</sup>, GS Arcanjo<sup>b</sup>, JVG Batista<sup>b</sup>, AP Silva<sup>b</sup>, CA Brandão<sup>a</sup>, BV Alcantara<sup>b</sup>, ACD Anjos<sup>b,c</sup>, AS Araujo<sup>c</sup>, AR Lucen-Araújo<sup>b</sup>, MAC Bezerra<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

<sup>b</sup> Programa de Pós-Graduação em Genética, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

<sup>c</sup> Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil

**Objetivos:** A anemia falciforme (AF) é uma doença hereditária, caracterizada por grande variabilidade clínica que pode ser influenciada por fatores genéticos. Neste sentido, o gene KLOTHO é visto como alvo molecular promissor devido seu papel na biologia do óxido nítrico, estresse oxidativo e adesão vascular, processos importantes na clínica dos indivíduos com AF. O objetivo do estudo foi avaliar se o polimorfismo (rs9536314) do gene KL está relacionado com o desenvolvimento de complicações clínicas como crise vaso-oclusiva, acidente vascular cerebral, sequestro esplênico, síndrome torácica aguda, priapismo e dactilite em pacientes pediátricos com anemia falciforme acompanhados no programa de triagem neonatal da Fundação HEMOPE. **Métodos:** O estudo foi conduzido por comparação de grupos, sendo realizada a caracterização clínica e molecular em 274 pacientes com AF entre 3 e 18 anos (mediana de idade 11 anos, 50,7% do sexo masculino). Todas as complicações clínicas registradas adequadamente nos prontuários, desde o nascimento até a data da avaliação final (06/2022), foram computadas. **Resultados:** Dos 274 pacientes genotipados, 202 (73,7%) tiveram genótipo TT, 67 (24,4%) TG e 5 (1,82%) GG. Os resultados das análises de associação demonstraram que o SNP rs9536314 não estava relacionada com as complicações clínicas avaliadas ( $p > 0,05$ ). **Discussão:** Embora pesquisas tenham associado a presença desse polimorfismo como fator de risco para a ocorrência de priapismo, na população de estudo deste trabalho esses dados não foram reproduzidos, o que pode estar relacionado as diferentes populações estudadas, tal como a quantidade de pacientes avaliados e a utilização de diferentes critérios na divisão de grupos. No que diz respeito as análises de associação com as outras complicações clínicas dos indivíduos pediátricos, observou-se que o SNP KL rs9536314 também não se mostrou associado com o risco de desenvolvimento de nenhuma delas. Apesar disto, ainda se faz necessária a realização de estudos futuros com uma amostra populacional maior para a confirmação destes resultados. **Conclusão:** Por fim, considerando que as complicações clínicas da doença possuem um caráter multifatorial e que vários genes estão possivelmente envolvidos no seu desenvolvimento, outros genes candidatos também devem ser investigados. Além disso, dada suas associações fisiopatológicas percebe-se que o KL pode ser um modulador da doença, sendo

interessante que mais estudos sejam desenvolvidos para ampliar as investigações.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.179>

#### EFEITOS DA TROMBOMODULINA NA GERAÇÃO DE TROMBINA EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME UTILIZANDO ST GENESIA-UM ESTUDO PILOTO

SM Santiago, SS Soares, VP Nembri, LOR Maia, LET Britto, JCB Amaral, CA Leite, AR Soares, NR Villela, MDGC Souza

Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

**Objetivos:** Avaliar os efeitos da trombomodulina (TM) na geração de trombina *ex-vivo* em pacientes com Doença Falciforme (DF), usando o ensaio ThromboScreen ST Genesia. **Materiais e métodos:** O protocolo do estudo teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE)-UERJ e todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes de sua inclusão no estudo. Foram incluídos 25 pacientes com DF, acompanhados pelo ambulatório de Hematologia-HUPE, clinicamente estáveis, com idade superior a 18 anos, em uso ou não de hidróxi-ureia (HU), e sem uso de anticoagulantes. Após coleta, o sangue foi centrifugado e o plasma citratado pobre em plaquetas foi separado e armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Para a análise, as amostras foram descongeladas em banho-maria a  $37^{\circ}\text{C}$  e, a geração de trombina foi avaliada usando o reagente ThromboScreen no equipamento ST Genesia (Stago Diagnóstica, Asnières, França). O ST Genesia é um analisador de geração de trombina totalmente automatizado, desenvolvido para avaliar o potencial hemostático em pacientes com distúrbios trombóticos e hemofilias. O ensaio usando o reagente ThromboScreen permite monitoramento da formação de trombina na ausência e na presença de TM (proteína que se liga a trombina e ativa o sistema anticoagulante das proteínas C e S). Os parâmetros avaliados foram: lag time (início da formação da trombina), peak height (concentração máxima da trombina), Time to peak (tempo decorrido até a produção máxima de trombina) e ETP (potencial de trombina endógena) que é calculado através da área sob a curva e reflete o montante total de trombina gerada. A análise estatística foi realizada usando o Graph Pad Prism 5. Os dados foram checados quanto a normalidade pelo teste Shapiro-Wilk e comparados antes e após a adição de TM através do Teste t de Student pareado. Os dados foram expressos como média±desvio-padrão e o nível de significância estatística adotado foi de  $p < 0,05$ . **Resultados:** Dos 25 pacientes incluídos, 16 tinham HbSS, 4 HbSC, 4 HbSβ talassemia e 1 HbSα talassemia, 17 eram mulheres e 8 homens, 15 pacientes estavam em uso de HU e 10 não. A faixa etária dos pacientes foi de  $31,28 \pm 9,384$  anos. O lag time foi significativamente mais prolongado na presença do que na ausência de TM ( $2,842 \pm 0,5305$  vs  $2,623 \pm 0,4594$  min,  $p < 0,0001$ ) e houve redução significativa de ETP ( $1113 \pm 215,2$  vs  $992 \pm 285,5$  nM.min,  $p = 0,0016$ ) na presença de TM. Não houve diferença estatística em relação ao peak

height ( $240,8 \pm 56,27$  vs  $240,1 \pm 67,34$  nM,  $p = 0,8773$ ) e time to peak ( $4,649 \pm 0,6523$  vs  $4,623 \pm 0,6186$  min,  $p = 0,1572$ ) na ausência e presença de TM, respectivamente. **Discussão:** Nossos resultados preliminares sugerem que a presença de TM parece ter exercido seu efeito inibitório na geração de trombina através da ativação do sistema das proteínas C/S, prolongando o Lag time e diminuindo o ETP significativamente no plasma dos pacientes com DF. **Conclusão:** Esse estudo piloto sugere que a TM possivelmente esteja inibindo a geração de trombina *ex-vivo* em pacientes com DF. No entanto, é necessário aumentar o número de pacientes e incluir controles saudáveis para comprovar nossos resultados. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.180>

#### IDENTIFICAÇÃO DE HETEROZIGOSE COMPOSTA PARA HEMOGLOBINAS S E Hb RUSH POR ASSOCIAÇÃO DE METODOLOGIAS LABORATORIAIS

GA Bernardino<sup>a,b</sup>, ACM Berti<sup>a</sup>, LA Souz-Junior<sup>a</sup>, VS Ramos<sup>a</sup>, E Belin-Junior<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Comissão Setorial de Avaliação (CPTL), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

<sup>b</sup> Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), São Luís, MA, Brasil

**Objetivo:** Relatar o primeiro caso de heterozigose composta para hemoglobinas (Hbs) S e Rush. **Material e métodos:** Amostra de sangue total do paciente, sexo masculino, 14 anos, proveniente do ambulatório do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão, foi enviada 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-Abbott), análises cromatográficas (HPLC-Premier Resolution, Trinity Biotech), eletroforese de Hb (ELH) em pH ácido e alcalino (SPIFE<sup>®</sup> 3000-Helena Laboratories) e análises moleculares (PCR-RE e sequenciamento do gene beta globina – HBB, sequenciador 3770xl DNA analyser). **Resultados:** O hemograma e reticulograma apresentaram os seguintes parâmetros: E= 4,59 milhões/mm<sup>3</sup>; Hb = 12,6 g/dL; Ht = 36,3%; VCM = 79,2 fL; HCM = 27,5 pg; CHCM = 34,7%; RDW = 19,5%; Reticulócitos = 261.900/mm<sup>3</sup>; CHR = 31,9 pg; VCMr = 98,4 fL e a análise microscópica complementar mostrou anisocitose +++/4+, microcitose +/4+, policromasia +/4+, hemácias em alvo +/4+. Os resultados das dosagens de ferro sérico, ferritina, índice de saturação da transferrina, LDH, bilirrubina total, direta e indireta foram, respectivamente: 119 ug/dL, 235,5 ng/mL, 51,5%, 186,5 U/L, 1,55 mg/dL, 0,39 mg/dL e 1,16 mg/dL. O perfil cromatográfico apresentou Hb S (87,7%), Hb F (1,3%) e Hb A2 (3,3%). A ELH em pH alcalino apresentou três frações, uma correspondente à Hb S e dois distintos, na região de Hb F. A eletroforese em pH ácido apresentou uma banda correspondente à Hb S e outra entre as regiões S e C. As