

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

Objetivo: Relatar caso de paciente em seguimento ambulatorial em investigação de anemia hemolítica desde a infância, com diagnóstico de deficiência de glicose fosfato isomerase. **Material e métodos:** As informações contidas neste relato de caso foram obtidas por meio de revisão de prontuário do paciente e revisão de literatura. **Resultados:** Paciente sexo masculino, 48 anos, com início de seguimento com hematologia do HCFMRP-USP em 2007, para investigação de anemia hemolítica desde a infância. Em primeira consulta, exames laboratoriais demonstravam anemia discreta (Hb 10,5), com exames para avaliação de hemólise positivos, sem padrão autoimune (coombs direto negativo). Além de provas de hemólise positivas, paciente apresentava esplenomegalia discreta (confirmada em exame ultrassonográfico de abdome). Iniciada investigação para anemias hemolíticas hereditárias e adquiridas, sendo realizada eletroforese de hemoglobinas, teste para deficiência de G6PD, curva de fragilidade osmótica e pesquisa de clone HPN, com resultados negativos. Paciente manteve acompanhamento ambulatorial ao longo dos anos, com persistência de anemia leve com positividade para provas de hemólise, sem necessidade de suporte transfusional. Em 2024, realizado teste genético para painel de anemias hereditárias, com achado de homozigose no gene GPI (*glucose-6-phosphate isomerase*), denotando anemia hemolítica não-esferocítica por deficiência de glicose fosfato isomerase. **Discussão:** A glicose-fosfato isomerase (GPI) é uma enzima sintetizada em diversas células do corpo; e nos eritrócitos, catalisa a conversão de glucose-6-fosfato em frutose-6-fosfato na via glicolítica. A deficiência desta enzima resulta em comprometimento na produção de adenosina trifosfato (ATP), prejudicando a homeostase das hemácias, implicando em sua destruição precoce. A deficiência de GPI é causada por mutações em homozigose ou heterozigose composta no gene GPI (localizado no cromossomo 19), e possui padrão de herança autossômico recessivo. A principal expressão clínica dessa doença são graus variados de hemólise, com períodos de exacerbação após episódios infecciosos ou crise aplástica. Hiperbilirrubinemia (à custa de bilirrubina indireta) também caracteriza o perfil hemolítico da doença, causando icterícia e predisposição à formação de cálculos biliares. Em alguns casos, também foi observado comprometimento neuromuscular, com hipotonia, ataxia e deficiência intelectual. O diagnóstico é estabelecido pela pesquisa de atividade da enzima GPI nos glóbulos vermelhos, através de ensaios enzimáticos ou testes genéticos. O manejo terapêutico é heterogêneo, e depende das manifestações clínicas e grau de hemólise apresentado pelo paciente, podendo ser realizadas transfusões de hemácias e esplenectomia. **Conclusão:** O relato de caso demonstra uma doença cujo diagnóstico é raro e complexo através do sistema de saúde brasileiro, entretanto, ressalta a importância do reconhecimento de diagnósticos diferenciais para anemias hemolíticas hereditárias tanto para o seu tratamento de suporte adequado, quanto para o aconselhamento dos pacientes.

A PANOPTOSE NA ANEMIA FALCIFORME É UMA VIA DE PROVÁVEL OCORRÊNCIA?

VL Guardia, 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 e objetivos: PANoptose é uma condição celular de morte programada que causa inflamação, sendo primeiramente descrita por Malireddi e colaboradores em 2019. Se trata de uma resposta celular frente a determinados estímulos, como infecções (virais, fúngicas ou bacterianas) e cânceres. Essa estimulação leva à formação de um complexo molecular chamado PANoptossomo, que é composto por moléculas que podem desencadear/induzir vias de ativação de três outros tipos de morte celular programada, sendo eles: piroptose, apoptose e necroptose. O motivo da célula, simultaneamente e coordenadamente, morrer por esses três tipos de vias metabólicas é para gerar uma maior garantia de que o patógeno ou defeitos intrínsecos, por exemplo, serão eliminados e não prejudicarão o organismo. Porém, pelo fato de ser uma morte celular inflamatória, a mesma pode causar prejuízos para o organismo, colaborando com um impacto negativo no tratamento e prognóstico de determinadas doenças, como COVID-19, apesar de também proporcionar uma maior resistência do mesmo contra outros tipos de doenças, como a eliminação de células cancerígenas em carcinoma adrenocortical. Além dos estímulos já citados, também temos estresse oxidativo (através da geração de espécies reativas de oxigênio) e isquemia colaborando para a ocorrência da PANoptose, o que nos leva a pensar que, indiretamente, condições hematológicas, tais como anemia falciforme (AF), podem causar estímulos para a ocorrência da PANoptose. Onde a AF, por exemplo, por possuir a capacidade de causar vaso-oclusão e estresse oxidativo, pode criar um ambiente propício para que determinadas células entrem nesse processo único de morte celular. Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica com o intuito de buscar na literatura científica a relação entre anemia falciforme e PANoptose. **Métodos:** Foram pesquisados artigos científicos recentes (datando no máximo de 5 anos atrás) nas plataformas PubMed e SciELO utilizando o termo de busca “panoptosis”. **Resultados:** Foram encontrados/analizados 89 artigos na plataforma PubMed, enquanto que na SciELO não foi encontrado nenhum artigo com o tema. Após a análise, não foram encontradas menções que relacionassem diretamente a anemia falciforme com a ocorrência de PANoptose. **Discussão:** Apesar de não ter sido encontrado nenhuma menção que relacione diretamente a anemia falciforme (AF) com a ocorrência de PANoptose, alguns estímulos causadores dessa situação celular única, são comuns com algumas reações causadas pela AF, dentre elas a capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio (ROS) e causar isquemia. Portanto, é possível que a AF possa proporcionar um ambiente favorável para a ocorrência da PANoptose. **Conclusão:** Portanto, concluímos que apesar de não termos encontrado menção direta da AF com a