

ID – 1082

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DOS HAPLÓTIPOS DA HEMOGLOBINA S EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME, ATENDIDOS EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

GHDF Bizarro ^a, LC de Oliveira ^a, LD Sousa ^a,
LMF Souza ^b, VEDM Luna ^b, EDS Galdino ^b,
GLG Dos Santos ^b, MAC Bezerra ^b,
FMGDC Bandeira ^a

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

^b Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife, PE, Brasil

Introdução: A mutação no gene β -globina, que resulta na produção da hemoglobina S (HbS), é o evento que desencadeia as obstruções vasculares, inflamação e lesões orgânicas crônicas características da anemia falciforme. A gravidade e a variabilidade fenotípica da doença estão relacionadas a fatores genéticos, especialmente aos diferentes haplótipos do gene β S-globina, os quais refletem a ancestralidade africana e influenciam os níveis de hemoglobina fetal (HbF). **Objetivos:** Identificar molecularmente os haplótipos do gene β S-globina em pacientes com anemia falciforme atendidos em um hospital universitário do Rio de Janeiro, contribuindo para a compreensão da heterogeneidade clínica da doença. **Material e métodos:** Trata-se de um estudo descritivo, de corte transversal. Foram incluídos pacientes com diagnóstico confirmado de anemia falciforme, maiores de 18 anos, em acompanhamento regular no ambulatório de hematologia. Amostras de sangue periférico foram coletadas durante a pré-consulta de rotina, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O material foi encaminhado ao laboratório de biologia molecular, onde foi extraído o DNA genômico pelo método de fenol-clorofórmio. A análise molecular dos haplótipos foi realizada por PCR-RFLP, utilizando a enzima DdeI e seis regiões polimórficas no cluster da β -globina. Os haplótipos foram classificados como CAR, Benin, Senegal, Camarões e Atípico, conforme padrões descritos na literatura. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa. **Resultados:** Foram analisadas 74 amostras, com identificação haplotípica conclusiva em 56 pacientes (75,7%), dos quais 32 eram homens e 24 mulheres. O haplótipo CAR foi o mais prevalente, presente em 49 amostras (87,5%), isoladamente ou em combinação. As distribuições observadas foram: 21 pacientes (37,5%) com CAR/CAR; 15 (26,8%) com CAR/Benin; 13 (23,2%) com CAR/Atípico; 4 (7,1%) com Benin/Benin; e casos isolados de Benin/Atípico, Benin/Camarões e Senegal/Atípico (cada um com 1,8%). A diversidade observada reflete a heterogeneidade genética da população brasileira, com presença significativa de haplótipos atípicos (28,6%). **Discussão e conclusão:** A predominância do haplótipo CAR corrobora dados previamente publicados sobre populações afrodescendentes brasileiras, estando associado a formas mais graves da anemia falciforme. Por outro lado, haplótipos como o Senegal são raros e geralmente associados a manifestações clínicas mais brandas. A presença expressiva de haplótipos atípicos sugere

recombinações genéticas e miscigenação, características da população brasileira. Este estudo reafirma a importância da análise molecular dos haplótipos da β -globina para a compreensão da variabilidade clínica da anemia falciforme, podendo auxiliar na predição do prognóstico e na personalização do manejo terapêutico. Do ponto de vista da ancestralidade, também pode representar um valor adicional para a população afetada por essa condição.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104123>

ID – 2989

CHARACTERIZING THE PATHOPHYSIOLOGY OF SICKLE CELL DISEASE (SCD) EX VIVO: CREATION OF AN AUTOMATED FLUORESCENCE IMAGING ASSAY TO DYNAMICALLY EVALUATE THE IMPACT OF OXYGEN-LIMITED CONDITIONS ON RED BLOOD CELL SICKLING

ML Arrojo ^a, GBC Moreto ^a, ACS Pinto ^b,
SK Haddad ^b, RA Panepucci ^a

^a Laboratory of Functional Biology (LFBio); Regional
Blood Center - Ribeirão Preto - SP – Brasil

^b Regional Blood Center, Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introduction: Sickle cell disease (SCD) is a genetic blood disorder caused by a single-point mutation in the β -globin gene (c.20A>T; p.Glu6Val), leading to the production of hemoglobin S (HbS). In low-oxygen environments, HbS polymerizes and causes red blood cells (RBCs) to adopt a sickled shape, triggering vaso-occlusion, hemolysis, and systemic complications. Despite decades of research, the dynamic mechanisms driving sickling remain incompletely understood — partly due to the lack of functional tools capable of capturing these rapid and complex morphological changes in real time. **Objectives:** In this study, we present a robust, automated fluorescence imaging assay designed to monitor RBC sickling ex vivo under oxygen-restricted conditions. **Material and methods:** RBCs (5×10^4 /well) obtained from SCD patients were plated on 96-well plates coated with PBS-BSA to promote adherence. A coverslip and silicone oil layer were applied to reduce oxygen diffusion. Hypoxia was chemically induced using 2% sodium metabisulfite. In parallel, we also tested an enzymatic system using glucose oxidase and catalase to evaluate a more physiological method of oxygen depletion. Images were captured every 10 seconds for 60 minutes using the ImageXpress Micro XLS system, configured with transmitted light and a DAPI filter (λ : 417–477 nm), optimizing contrast via Hb absorption at 420 nm. To analyze cell morphology, a customized pipeline in CellProfiler was combined with CellPose for AI-driven segmentation, eliminating the need for fluorescent staining. **Results:** Over 140 timepoints per cell were analyzed. A comprehensive panel of morphometric parameters—including eccentricity, solidity, compactness, and area—was extracted at each timepoint. Machine learning classification was performed using CellProfiler Analyst. RBCs were manually labeled as “Round” or “Sickled” to train a Random Forest