

ID – 226

# DO MITOCHONDRIA-DERIVED REACTIVE OXYGEN SPECIES MODULATE PLATELET ACTIVATION AND AGGREGATION: COMPARISON BETWEEN SICKLE CELL PATIENTS AND HEALTHY INDIVIDUALS

F De Lima <sup>a</sup>, E Nader <sup>a</sup>, S Esperti <sup>a</sup>,  
B Asghariastanhei <sup>a</sup>, A Leuci <sup>b</sup>, A Peugeot <sup>c</sup>,  
Y Dargaud <sup>b</sup>, R Hamdi <sup>b</sup>, C Nougier <sup>b</sup>, P Connes <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire LIBM, Université Claude Bernard Lyon 1, France

<sup>b</sup> Laboratoire "Hémostase et Thrombose", Université Claude Bernard Lyon 1 - France

<sup>c</sup> Institut d'Hématologie et d'Oncologie Pédiatrique (IHOPE), France

**Introduction:** Previous studies have shown that platelets play an important role in the pathophysiology of sickle cell disease (SCD). Increased platelet activation has been reported and would contribute to the occurrence of clinical complications such as vaso-occlusive crises. In addition, increased production of mitochondrial reactive oxygen species (ROS) in platelets from SCD patients have been found to correlate with bioenergetic dysfunction and mitochondrial hyperpolarization. **Objectives:** Our study investigated whether mitochondria-derived ROS could play a role in platelet activation and aggregation in SCD patients. **Material and methods:** Blood samples were collected in 3.6% citrate tubes from 25 SCD and 12 healthy individuals to obtain washed platelets. Flow cytometry was used to assess mitochondrial ROS, total ROS, P-selectin and intracellular calcium (Ca<sup>2+</sup>) levels. Platelet aggregation was assessed in a transmitted light aggregometer. We compared baseline values between the two groups and also conducted experiments by using TRAP6 (25 μM, a platelet activator), antimycin A (AA, an inhibitor of complex III of mitochondrial respiration), or N-acetylcysteine (NAC, an antioxidant). **Results:** SCD platelets were more activated at baseline than platelets from controls ( $P < 0.05$ ). No difference was observed between the two groups for platelet Ca<sup>2+</sup> levels. TRAP-6 was able to further activate platelets in both groups but the activation was higher in controls ( $P < 0.05$ ). SCD platelets had higher levels of mitochondria-related ROS compared to platelets from healthy volunteers ( $P < 0.001$ ). The use of AA increased mitochondrial ROS in platelets, as well as platelet activation, in the two groups ( $P < 0.001$ ) but the increase for these two parameters was higher or tended to be higher in controls ( $P < 0.05$ ;  $P = 0.1$ ). The use of NAC was able to decrease P-selectin exposure in patients and controls at a dose of 200 mg/mL ( $P < 0.01$  and  $P < 0.001$ , respectively). NAC tended to decrease total ROS and decreased mitochondrial ROS ( $P < 0.01$ ) in the SCD group, and decreased platelet aggregation in the control group only ( $P < 0.05$ ). **Discussion and conclusion:** Our results suggest that the higher mitochondria ROS is responsible for the higher platelet activation in SCD individuals. The lower platelet aggregation in patients, confirmed by our study, may be a consequence of a refractory state of platelets to continuous activation in vivo. Dysfunction in platelet mitochondrial respiration could lead to alterations in platelet

bioenergetics, which could contribute to a worsening of the patients' clinical condition. We are currently exploring the activity of the entire mitochondrial respiratory chain in healthy and SCD platelets and plan to investigate associations with clinical severity.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104137>

ID - 3356

# DO SINTOMA AO DIAGNÓSTICO: A APRESENTAÇÃO CLÍNICA DA ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE

MLGG Rocha, CGd Silva, LAL Frota,  
MEP Vasconcelos, MES Tahim, ATT Montalvão,  
EAM Braga, LA Arcanjo, LOCS Dantas,  
MJ Passos

Centro Universitário Inta (UNINTA), Sobral, CE, Brasil

**Introdução:** A anemia hemolítica autoimune é uma condição rara, caracterizada pela destruição precoce das hemácias mediada por autoanticorpos, levando a um quadro clínico variável que pode incluir fadiga, icterícia e esplenomegalia. Reconhecer seus sinais e sintomas iniciais é essencial para orientar a investigação diagnóstica, permitir intervenções rápidas e reduzir complicações associadas. **Objetivos:** Compreender a apresentação clínica da anemia hemolítica autoimune. **Material e métodos:** Trata-se de um estudo exploratório por meio de pesquisa bibliográfica não sistematizada, sendo operacionalizada a partir da busca eletrônica de artigos presentes na base de dados: Google Acadêmico. Para os critérios de inclusão, foram selecionados trabalhos publicados no período de 2021 a 2025, contendo o texto na íntegra no idioma Português, que atendessem ao objetivo proposto. Foram excluídos artigos publicados antes do ano de 2021. **Discussão e conclusão:** A anemia, de forma geral, é uma condição em que os eritrócitos encontram-se baixos no sangue, causando baixa oxigenação para os órgãos. No caso da anemia hemolítica autoimune (AHAI), sua diferenciação decorre dos sinais e dos sintomas que resultam diretamente da hemólise, caracterizando-a como uma doença rara definida pela união de anticorpos específicos e hemácias, resultando em hemólise pelo sistema retículo-endotelial. Pode ser classificada quanto a sua origem, em primária, em que não há uma outra doença que justifique os anticorpos achados, e em secundária, em que há uma doença pré-existente que resulte na manifestação da AHAI. Ainda, pode ser classificada quanto ao anticorpo presente, podendo ser quente (IgG) ou frio (IgM), mas, em alguns casos, é possível encontrar os dois tipos de anticorpos, sendo chamada de mista. Os sintomas mais prevalentes são a fadiga intensa, palidez, icterícia e esplenomegalia, além de taquicardia, tontura e calafrios que indicam hemólise grave. Com relação ao diagnóstico, o teste de Coombs direto e indireto é o mais indicado de se realizar, mas caso seu resultado seja negativo a doença não está excluída. Outros testes podem ser realizados para a confirmação do diagnóstico, como hemograma, dosagem de bilirrubina, nível

de desidrogenase láctica (LDH) e haptoglobina. Por fim, o tratamento de AHAI irá depender se é primária ou secundária e qual o anticorpo encontrado, sendo assim, para os quentes o recomendado é suplementação com ácido fólico e corticoides, como prednisona e dexametasona, já para os frios é importante proteger o paciente do frio nas extremidades do corpo e faz-se o uso de imunossupressores, que inicialmente mostram baixas respostas terapêuticas. A indicação de transfusão sanguínea é para o alívio dos sintomas da anemia e a esplenectomia é a forma indicada em casos extremos. Com base nos artigos analisados, percebe-se que é necessário um tratamento que seja individualizado, de acordo com o tipo de AHAI e a gravidade da sintomatologia. Quanto à evolução do quadro clínico, casos de AHAI secundária possuem pior prognóstico que a primária e mesmo apresentando boas respostas aos tratamentos propostos há casos fatais relatados. Apesar de rara, a AHAI já possui bastantes características marcantes e testes diagnósticos específicos que facilitam o diagnóstico precoce e o tratamento adequado, possibilitando uma melhor qualidade de vida ao paciente. Porém, ainda é imprescindível a realização de mais estudos sobre a doença em questão para maiores entendimentos sobre suas etiologias e novas formas de diagnósticos e de tratamentos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104138>

ID - 1300

#### EDIÇÃO GÊNICA NO TRATAMENTO DA DOENÇA FALCIFORME: REVISÃO NARRATIVA

ALDS Madi<sup>a</sup>, ABF Queiroz<sup>a</sup>, SBdA Lima<sup>b</sup>,  
DCA Feio<sup>a</sup>, SR Antunes<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centro Universitário Metropolitano da Amazônia (UNIFAMAZ), Belém, PA, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Federal do Pará (UFPA), Altamira, PA, Brasil

**Introdução:** A doença falciforme é uma condição monogênica causada por mutação no gene da hemoglobina S (HbS), resultante da substituição do ácido glutâmico (códon GAG) por valina (GTG). Essa alteração acarreta a falcização das hemácias, tornando-as frágeis e de vida útil curta. Esse formato dificulta a passagem por capilares, gerando anemia crônica e vaso-oclusão. Atualmente, uma das abordagens terapêuticas é a terapia celular e, em especial, a edição gênica. Essa técnica consiste em uma alteração genômica direcionada a uma sequência de DNA específica. Neste contexto, permite a correção do gene mutado da globina  $\beta$  (HBB) ou a indução da produção de outras hemoglobinas. **Objetivos:** Descrever as principais estratégias de edição gênica no tratamento da doença falciforme. **Material e métodos:** Realizou-se uma revisão integrativa nas bases de dados SciELO e PubMed, com artigos de revisão em português ou inglês, publicados entre 2020 e 2025. Foram excluídos artigos fora do período, duplicados e que não abordavam terapia celular e anemia falciforme. **Discussão e conclusão:** Três possibilidades tecnológicas de edição gênica se destacam: CRISPR-CAS9, edição primária e edição de base. Essas tecnologias visam alcançar

duas principais finalidades: restaurar a expressão normal do gene HBB ou aumentar a produção de HbF para compensar a HbS. A CRISPR-CAS9 é a tecnologia que permite ambas as abordagens, a depender da estratégia adotada. Para correção do gene HBB, promove-se a clivagem da dupla-fita do DNA, ativando a via de reparo por homologia (HDR), que utiliza um molde de DNA para substituir o códon GTG por GAG. Para estimular a síntese de HbF, aciona-se a via de reparo por junção de extremidade não homóloga (NHEJ), gerando INDELS, que reativam os genes promotores HBG1/HBG2 (codificadores da cadeia  $\gamma$ ) ou suprimem o gene BCL11A (silenciador dos genes promotores) em sua região eritroide-específica. Na edição de base, há alteração direta de um único nucleotídeo: a Cas9 nickase (nCas9) e o RNA guia dirigem o sistema ao local da mutação, onde uma desaminase do tipo citidina (enzima que altera quimicamente a base nitrogenada) converte a base T (do códon GTG) em C, gerando GCG, codificador da hemoglobina G-Makassar, uma variante funcional da Hb. Na edição primária, utiliza-se a nCas9, orientada por pegRNA (complexo do RNA guia com a sequência molde de RNA), que realiza corte preciso em uma das fitas de DNA que contém o códon valina. A transcriptase reversa converte o RNA molde (códon GAG) em DNA complementar, que é incorporado ao genoma por HDR, resultando na expressão normal do gene HBB. **Conclusão:** A CRISPR-CAS9 é a única tecnologia de edição gênica disponível comercialmente, tendo como estratégia a supressão do gene BCL11A, abordagem clínica consolidada. A edição de base encontra-se em testes clínicos iniciais, enquanto a edição primária ainda está em fase pré-clínica. Ambas apresentam resultados promissores. É importante a continuidade das pesquisas e o desenvolvimento de testes clínicos para ampliar as opções terapêuticas da doença falciforme.

#### Referências:

Cavazzana M, et al. Treating sickle cell disease: Gene therapy approaches. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2025;65:397-413.

Dimitrievska M, et al. Revolutionising healing: Gene Editing's breakthrough against sickle cell disease. *Blood Reviews*. 2024;65:101185.

Frangoul H, et al. CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and  $\beta$ -thalassemia. *New Engl J Med*. 2021;384:252-60.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104138>

ID - 1058

#### EFICÁCIA E SEGURANÇA DO CRIZANLIZUMABE NA ANEMIA FALCIFORME: UMA REVISÃO BASEADA EM ENSAIOS CLÍNICOS

LMF Souza, VEdM Luna, GdS Arcanjo,  
MT Bessoni, MPdM Vasconcelos, BAdF Lacerda,  
ABdS Araújo, TdSS de França, MAC Bezerra

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

**Introdução:** Na anemia falciforme (AF) ocorre a troca de aminoácidos no gene da beta-globina, resultando na formação da