

## Avaliação do efeito do heme livre sobre a fibrinólise

Vanessa M Tani\* <sup>1</sup>, Bidossessi Wilfried Hounkpe <sup>1</sup>, Beatriz Martinelli <sup>2</sup>, Silmara Lima Montalvão <sup>2</sup>, Erich V De Paula <sup>1,2</sup>. <sup>1</sup> Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, <sup>2</sup> Centro de Hematologia e Hemoterapia da Unicamp.

### Resumo

A fisiopatologia do aumento do risco trombótico nas anemias hemolíticas é complexa, e recentemente, o heme livre liberado durante a hemólise intravascular passou a figurar entre os potenciais mediadores do desequilíbrio hemostático nestes pacientes. No entanto há divergências no papel do heme, ora como ativador, ora como inibidor da hipercoagulabilidade. Especificamente, pouco se sabe sobre seu efeito sobre o sistema fibrinolítico, que exploramos neste projeto através de um ensaio funcional de fibrinólise: o tempo de lise do coágulo (TLC).

**Palavras-chave:** fibrinólise, heme, tempo de lise do coágulo.

### Introdução e métodos

Doenças hemolíticas estão associadas a um estado crônico de hipercoagulabilidade<sup>1,2</sup>, cuja fisiopatologia permanece incerta. Recentemente, o aumento do heme livre no plasma surgiu como potencial ativador da hemostasia, a partir de dados mostrando sua capacidade de ativar a coagulação em modelos animais e em estudos *in vitro*<sup>3</sup>. No entanto, pouco se sabe sobre o papel do heme sobre a fibrinólise. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do heme sobre o sistema fibrinolítico através de um método clássico para avaliação global da fibrinólise: o tempo de lise do coágulo (TLC). Amostras de sangue total (ST) de 10 voluntários saudáveis recrutados no setor de doação de sangue do Hemocentro da Unicamp foram obtidas, para obtenção de plasma pobre em plaquetas (PPP). Em seguida, alíquotas de PPP ou ST foram incubadas com concentrações crescentes de heme (5uM, 10uM e 30uM) ou veículo, por 2 horas, e submetidas ao ensaio TLC que avalia a cinética de formação e dissolução de fibrina em amostras ativadas com fator tissular e ativador de plasminogênio tecidual (rTPa).

### Resultados e Discussão

Amostras de 10 voluntários, com idade média de 31 anos (18 a 48), sendo 7 homens e 3 mulheres foram usadas no estudo. Os resultados podem ser observados nas figuras 1 (PPP) e 2 (ST).

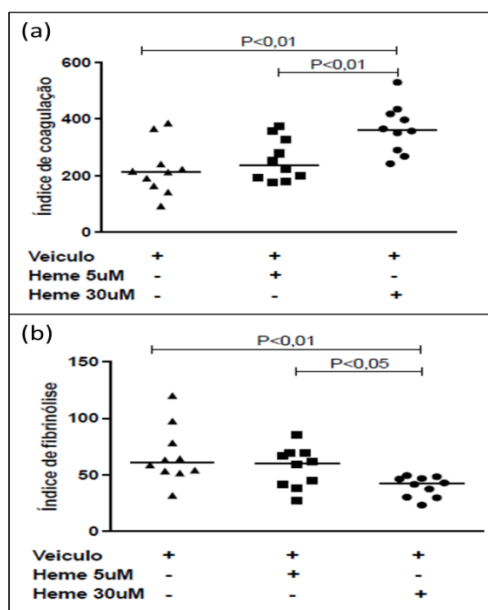


Figura 1. Índice de coagulação e índice de fibrinólise de amostras de PPP estimuladas com heme ou veículo, mostrando um aumento significativo da ativação da coagulação

(a) associada a uma redução do potencial fibrinolítico (b) nas amostras estimuladas com heme.

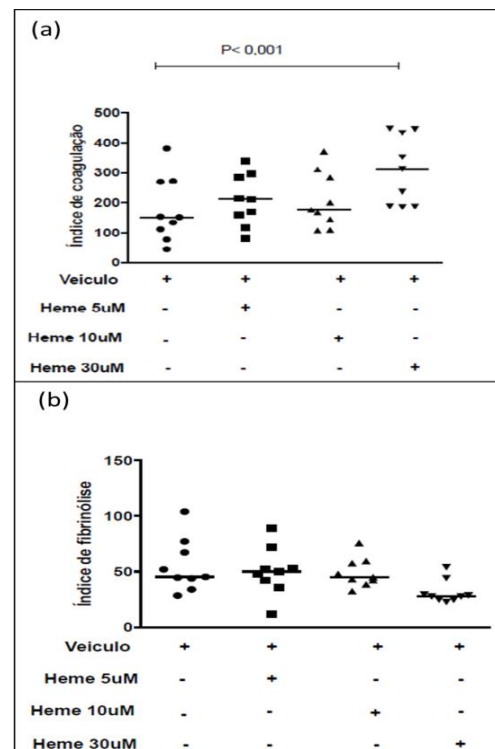


Figura 2. Índice de coagulação e índice de fibrinólise de amostras de ST estimuladas com heme ou veículo, mostrando um aumento significativo da ativação da coagulação (a) associada a uma redução do potencial fibrinolítico (b) nas amostras estimuladas com heme.

### Conclusões

A incubação o heme em duas concentrações clinicamente relevantes (observadas em pacientes com anemias hemolíticas) foi capaz de reduzir a atividade fibrinolítica tanto no plasma quanto em sangue total. Estes resultados sugerem que o heme pode contribuir para a indução de um estado de hipofibrinólise, desequilibrando o balanço hemostático em direção ao pólo da hipercoagulabilidade. Estudos em amostras de pacientes são necessárias para confirmar este achado.

- Lim, Ming Y, Kenneth I Ataga, and Nigel S Key. 2013. "Hemostatic Abnormalities in Sickle Cell Disease."
- Nouboussie, Denis, Nigel S Key, and Kenneth I Ataga. 2016. "Coagulation Abnormalities of Sickle Cell Disease: Relationship with Clinical Outcomes and the Effect of Disease Modifying Therapies."
- Hounkpe, Bidossessi Wilfried et al. 2015. "Role of Innate Immunity-Triggered Pathways in the Pathogenesis of Sickle Cell Disease: A Meta-Analysis of Gene Expression Studies."