

for reasons unknown 17 days after withdrawal from the study. **Discussion/Conclusion:** DFP effectively controlled iron burden in chronically transfused patients with SCD and other anemias, and it was noninferior to DFO. DFP use was associated with reductions in LIC and SF levels. Cardiac MRI T2* remained normal. DFP was well tolerated in patients who received up to 3 years of treatment, with no new safety concerns. We thank Dr. M Badr, Dr. B Inusa, Dr. AAM Adly, Dr. Y Kilinc, C Fradette, and NT Temin for their contribution to the studies. Sponsored by Chiesi Global Rare Diseases; medical writing support provided by Oxford PharmaGenesis Inc., and funded by Chiesi.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.040>

MECANISMOS MOLECULARES ENVOLVIDOS NO AUMENTO DA EXPRESSÃO DE HbF IN VITRO EM UMA SUBPOPULAÇÃO DE CÉLULAS CD34+ DE PACIENTES COM β -TALASSEMIA MAIOR

FP Albuquerque, IG Sousa, BB Souza, JHS Maués, C Lanaro, DM Albuquerque, FF Costa

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Pacientes com β -talassemia homozigótica e genótipo $\beta^0\beta^0$ produzem apenas hemoglobina fetal (HbF) e uma pequena proporção de hemoglobina A2. No entanto, na medula óssea desses pacientes foram descritas duas subpopulações de eritroblastos, uma com alta produção de HbF (High HbF) e outra com baixa produção de HbF (Low HbF). As células High HbF são provavelmente aquelas que sobrevivem à eritropoiese e dão origem aos glóbulos vermelhos viáveis. Entretanto, os mecanismos moleculares envolvidos nessa alta produção de HbF ainda não foram elucidados. Portanto, o objetivo do nosso projeto foi estudar, em cultura de células CD34+ de pacientes $\beta^0\beta^0$, diferenciadas para eritrócitos *in vitro*, as características moleculares das células relacionadas à alta produção de HbF (High HbF), frente aquelas com baixa produção de HbF (Low HbF). Para tanto, foi feita a coleta de sangue periférico dos pacientes e foram identificadas as células CD34+, essas foram diferenciadas *in vitro* e isoladas por citometria de fluxo (FACS Aria) de acordo com o conteúdo intracelular de HbF. Após a separação dos grupos High HbF e Low HbF, as células foram avaliadas morfológicamente por microscopia óptica, confocal e citometria de imagem. Em seguida, o RNA total foi extraído do pool de células isoladas e realizado o ensaio de sequenciamento de RNA (RNAseq), de forma que fosse possível analisar os transcritos que estavam diferencialmente expressos entre cada um dos grupos. Por fim, validamos os dados de sequenciamento por PCR em tempo real. O isolamento foi realizado no 10º dia de cultivo celular, quando as células apresentavam duplo perfil de marcação para anticorpos anti-transferrina (CD71) e anti-glicoforina (CD235), a intensidade média de fluorescência (MIF) dos marcadores foi de 1058 e 1365 para CD71 em grupos de controle saudável e β -talassemia, respectivamente, e para

CD235 foi de 430 em controles e 516 em $\beta^0\beta^0$. As células apresentavam-se em estágio intermediário de maturação. Após o isolamento das subpopulações de células de High HbF e Low HbF, a microscopia confocal mostrou uma clara diferença nos níveis de HbF intracelular das células analisadas, confirmando que o isolamento por citometria havia ocorrido conforme o esperado. Ao analisarmos, por citometria de imagem, as subpopulações das células isoladas, obtivemos um MIF de $7,8 \times 10^5$ para células High HbF e $1,7 \times 10^5$ para células Low HbF. Quando fizemos as análises para *single cell*, esses valores variaram de $2,2 \times 10^5$ para as células Low HbF e $1,9 \times 10^6$ de MIF para as células High HbF. Após todos os dados gerados pelo RNAseq serem filtrados, obtivemos uma lista de 16 genes enriquecidos e diferencialmente expressos entre células High HbF e Low HbF. A partir desses genes, foi possível identificar dois que aparentemente estavam associados ao aumento da produção de hemoglobina fetal, os genes SMARCA1 e LIN28B. O gene LIN28B codifica uma proteína de ligação ao RNA, que é descrita como um possível regulador dos níveis de HbF durante o desenvolvimento fetal, por aumentar a expressão de gama globina. Já o gene SMARCA1 contribui para o complexo de remodelação da cromatina durante o processo de transcrição e pode estar envolvido com os níveis de expressão de HbF. Esses resultados não apenas contribuem para um melhor entendimento dos mecanismos de regulação gênica envolvidos na produção de HbF, mas indicam uma potencial nova abordagem terapêutica para aumentar a produção de HbF em hemoglobinopatias.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.041>

MORTALIDADE POR ANEMIA HEMOLÍTICA ADQUIRIDA NO BRASIL (2010-2019)

CVCD Nascimento, DSR Farias, ECG Feio, HOA Rocha, A Shinkai, AS Brandão, SC Franco

Universidade do Estado do Pará (UEPA), Belém, PA, Brasil

Objetivos: A anemia hemolítica adquirida é uma condição que ocorre decréscimo do número total de hemácias em decorrência da sua destruição antecipada, sua causa está ligada a outras doenças e condições adquiridas após o nascimento. O objetivo do trabalho é realizar uma análise da mortalidade dessa doença no cenário brasileiro. **Materiais e métodos:** Foi realizado um estudo epidemiológico descritivo utilizando dados do Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), presente na plataforma DATASUS, limitando-se aos óbitos causados por anemia hemolítica adquirida entre os anos de 2010 e 2019. Assim, dados referentes aos fatores sociodemográficos como faixa etária, cor/raça, sexo e região de moradia, foram coletados. O teste qui-quadrado de proporções esperadas iguais foi utilizado para avaliar os parâmetros. **Resultados:** Foram encontrados um total 1664 óbitos por anemia hemolítica, registrados entre os anos de 2010 e 2019 no Brasil, classificados majoritariamente como: pessoas do sexo feminino (52,88%; $p < 0,05$), a partir de 55 anos (55,95%; $p < 0,01$), brancas (49,4%; $p < 0,01$), nordestinos (27,6%; $p < 0,01$) e sudestinos (38,34%; $p < 0,01$). Ademais,



destaca-se um crescimento anual médio de 7% dos óbitos nesse período. **Discussão:** Na análise dos dados observou-se um maior número de óbitos por anemia hemolítica (AH) no sudeste e nordeste, respectivamente, fato que pode estar ligado ao quantitativo populacional dessas regiões, que são as duas mais populosas do Brasil. Com relação a raça/cor, a literatura relata não haver predisposição, entretanto notou-se um maior quantitativo nos autodeclarados brancos. Também, identificou-se pequeno predomínio de morte em mulheres, isso pode ter relação com a maior prevalência de Anemia hemolítica autoimune (AHAI) neste mesmo grupo em adolescentes e adultos. Faz-se essa inferência, devido a AHA, na literatura, ser a AH adquirida mais comum, contudo ressalta-se que o SIM não permite fazer essa separação dos dados. Além disso, em uma revisão de literatura, apontou-se que há poucos estudos que analisam com propriedade a sobrevida e a taxa de mortalidade da AHA, mas reconheceu-se a sepse secundária a imunodepressão do tratamento como a causa mais comum de óbito, salientando-se um risco aumentado de morte para idade superior a 50 anos, o que mostra correspondência com os dados obtidos neste trabalho. Finalmente, o aumento linear observado merece destaque, pois a AH adquirida tem baixa incidência, e mesmo a AHA, a mais prevalente, ocorre apenas em cerca de 1 a 3 casos para cada 100.000 crianças ao ano, segundo a literatura. **Conclusão:** Conclui-se que a mortalidade por anemia hemolítica apresenta relação com idade e sexo, vitimando discretamente mais mulheres e majoritariamente pessoas de idade mais avançada, provavelmente devido ao fato de terem o sistema imunológico fragilizado pelo tratamento, levando ao óbito por sepse. Outrossim, enfatiza-se maiores mortes entre os declarados brancos, e o crescimento observado, mesmo com a baixa incidência da doença. Destarte, reforça-se a necessidade de mais estudos sobre o tema, visando-se encontrar melhores formas de aumentar a sobrevida e reduzir a morte em diferentes casos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.042>

NEW REPORT OF KÖLN HEMOGLOBIN FROM COUNTRYSIDE/INTERIOR OF SÃO PAULO

JO Rios, LR Pereira, CR Bonini-Domingos

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Hemoglobinopathies are considered a major public health problem in many countries, including Brazil, a fact explained by their frequency, genetic diversity and clinical importance. The unstable hemoglobin group is associated with congenital non-spherocytic hemolytic anemia due to instability of the hemoglobin molecule which can lead to the formation of characteristic inclusion bodies or Heinz bodies. Hb Köln beta 98(FG5) Val>Met is the result of the substitution of the amino acid valine for methionine at position 98 of the Beta chain of hemoglobin. Hemoglobin Köln reports are concentrated in Europe and in some parts of the Orient, such as northern Europe, among Jews, Czechoslovaks, Japanese, and also Koreans. A case was recently reported in India and, in

Brazil, some cases have been known since 1993. This hemoglobinopathy is widely distributed, however, its frequency is extremely low when compared to the most frequent variants such as hemoglobin S (HbS) and C (HbC) in Brazil. Patients with Hb Köln usually present with mild hemolytic anemia characterized by reticulocytosis, splenomegaly and bilirubin, jaundice, and persistent dark urine excretion. In addition, some case reports describe Köln patients with priapism or persistent thrombocytopenia. **Case description:** We report a case of Köln's Hemoglobin in a 54-year-old female patient with hemolytic anemia under investigation. Osmotic instability tests were performed with a NaCl solution, hemoglobin electrophoresis in cellulose acetate at alkaline pH in which the presence of a band migrating between A₂ and S hemoglobins was observed, when the hemolysate was performed with 1% saponin, search for Heinz bodies with a 1:1 brilliant cresyl blue solution incubated at 37°C for 30 minutes, after which the bodies were identified in the blood smear. Upon suspicion of unstable hemoglobin, other standard laboratory procedures were performed, such as High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with the Trinity® Premier Resolution Analytical Column equipment, in which a dosage of 3.18% HbA₂ and 0.16% HbF was observed. The results corroborate the electrophoretic and chromatographic profile suggestive of heterozygosity for Hb Köln. **Discussion:** It is known today that there are 155 unstable hemoglobins identified worldwide and, of these, approximately 102 lead to hemolysis or abnormal oxygen affinity. In contrast the other variants do not show hematological abnormalities, but show instability in in vitro test. The phenotype of unstable variants of hemoglobin is diverse and dependent on the position of the mutation, which can lead to changes in the structure of the globin chain or of the hemoglobin molecule. Hb Köln is the most common of the unstable variants of hemoglobin and was first described by Pribilla in 1962. One of the main characteristics of unstable hemoglobins is the presence of Heinz bodies, which was curiously observed in this patient's red blood cells, corroborating data already described in the literature. Thus, a reliable detection of Hb Köln together with genetic counseling and prenatal diagnosis are essential to improve the well-being of patients.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.043>

OSTEONECROSE EM DOENÇA FALCIFORME: RELATO DE CASOS COM MANIFESTAÇÕES INCOMUNS

TP Prudente^a, DV Minaré^a, AV Gonçalves^b, MCR Amorelli^b, RF Fonseca^b, MDRF Roberti^a

^a Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

^b Hemocentro de Goiás (HEMOGO), Goiânia, GO, Brasil

Objetivo: A osteonecrose (ON) é uma importante manifestação óssea da doença falciforme (DF), a qual traz grande morbidade para pacientes. Sua fisiopatologia está relacionada à vaso-oclusão decorrente do aumento da adesão entre as hemácias falciformes e outros componentes do sangue, como

