

interessante que mais estudos sejam desenvolvidos para ampliar as investigações.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.179>

EFEITOS DA TROMBOMODULINA NA GERAÇÃO DE TROMBINA EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME UTILIZANDO ST GENESIA-UM ESTUDO PILOTO

SM Santiago, SS Soares, VP Nembri, LOR Maia, LET Britto, JCB Amaral, CA Leite, AR Soares, NR Villela, MDGC Souza

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

Objetivos: Avaliar os efeitos da trombomodulina (TM) na geração de trombina *ex-vivo* em pacientes com Doença Falciforme (DF), usando o ensaio ThromboScreen ST Genesia. **Materiais e métodos:** O protocolo do estudo teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE)-UERJ e todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes de sua inclusão no estudo. Foram incluídos 25 pacientes com DF, acompanhados pelo ambulatório de Hematologia-HUPE, clinicamente estáveis, com idade superior a 18 anos, em uso ou não de hidróxi-ureia (HU), e sem uso de anticoagulantes. Após coleta, o sangue foi centrifugado e o plasma citratado pobre em plaquetas foi separado e armazenado a -80°C . Para a análise, as amostras foram descongeladas em banho-maria a 37°C e, a geração de trombina foi avaliada usando o reagente ThromboScreen no equipamento ST Genesia (Stago Diagnóstica, Asnières, França). O ST Genesia é um analisador de geração de trombina totalmente automatizado, desenvolvido para avaliar o potencial hemostático em pacientes com distúrbios trombóticos e hemofilias. O ensaio usando o reagente ThromboScreen permite monitoramento da formação de trombina na ausência e na presença de TM (proteína que se liga a trombina e ativa o sistema anticoagulante das proteínas C e S). Os parâmetros avaliados foram: lag time (início da formação da trombina), peak height (concentração máxima da trombina), Time to peak (tempo decorrido até a produção máxima de trombina) e ETP (potencial de trombina endógena) que é calculado através da área sob a curva e reflete o montante total de trombina gerada. A análise estatística foi realizada usando o Graph Pad Prism 5. Os dados foram checados quanto a normalidade pelo teste Shapiro-Wilk e comparados antes e após a adição de TM através do Teste t de Student pareado. Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio-padrão e o nível de significância estatística adotado foi de $p < 0,05$. **Resultados:** Dos 25 pacientes incluídos, 16 tinham HbSS, 4 HbSC, 4 HbS β talassemia e 1 HbS α talassemia, 17 eram mulheres e 8 homens, 15 pacientes estavam em uso de HU e 10 não. A faixa etária dos pacientes foi de $31,28 \pm 9,384$ anos. O lag time foi significativamente mais prolongado na presença do que na ausência de TM ($2,842 \pm 0,5305$ vs $2,623 \pm 0,4594$ min, $p < 0,0001$) e houve redução significativa de ETP ($1113 \pm 215,2$ vs $992 \pm 285,5$ nM.min, $p = 0,0016$) na presença de TM. Não houve diferença estatística em relação ao peak

height ($240,8 \pm 56,27$ vs $240,1 \pm 67,34$ nM, $p = 0,8773$) e time to peak ($4,649 \pm 0,6523$ vs $4,623 \pm 0,6186$ min, $p = 0,1572$) na ausência e presença de TM, respectivamente. **Discussão:** Nossos resultados preliminares sugerem que a presença de TM parece ter exercido seu efeito inibitório na geração de trombina através da ativação do sistema das proteínas C/S, prolongando o Lag time e diminuindo o ETP significativamente no plasma dos pacientes com DF. **Conclusão:** Esse estudo piloto sugere que a TM possivelmente esteja inibindo a geração de trombina *ex-vivo* em pacientes com DF. No entanto, é necessário aumentar o número de pacientes e incluir controles saudáveis para comprovar nossos resultados. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.180>

IDENTIFICAÇÃO DE HETEROZIGOSE COMPOSTA PARA HEMOGLOBINAS S E Hb RUSH POR ASSOCIAÇÃO DE METODOLOGIAS LABORATORIAIS

GA Bernardino^{a,b}, ACM Berti^a, LA Souz-Junior^a, VS Ramos^a, E Belin-Junior^a

^a Comissão Setorial de Avaliação (CPTL), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), São Luís, MA, Brasil

Objetivo: Relatar o primeiro caso de heterozigose composta para hemoglobinas (Hbs) S e Rush. **Material e métodos:** Amostra de sangue total do paciente, sexo masculino, 14 anos, proveniente do ambulatório do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão, foi enviada ao Laboratório de Genética da UFMS/CPTL para diagnóstico molecular de perfil hemoglobínico inconclusivo. Foram realizados hemograma, reticulograma (ADVIA 2120i-Siemens Healthineers), análises bioquímicas (ARCHITECT ci4100-Abbott), análises cromatográficas (HPLC-Premier Resolution, Trinity Biotech), eletroforese de Hb (ELH) em pH ácido e alcalino (SPIFE[®] 3000-Helena Laboratories) e análises moleculares (PCR-RE e sequenciamento do gene beta globina – HBB, sequenciador 3770xl DNA analyser). **Resultados:** O hemograma e reticulograma apresentaram os seguintes parâmetros: E= 4,59 milhões/mm³; Hb = 12,6 g/dL; Ht = 36,3%; VCM= 79,2 fL; HCM = 27,5 pg; CHCM= 34,7%; RDW= 19,5%; Reticulócitos= 261.900/mm³; CHr = 31,9 pg; VCMr = 98,4 fL e a análise microscópica complementar mostrou anisocitose +++/4+, microcitose +/4+, policromasia +/4+, hemácias em alvo +/4+. Os resultados das dosagens de ferro sérico, ferritina, índice de saturação da transferrina, LDH, bilirrubina total, direta e indireta foram, respectivamente: 119 ug/dL, 235,5 ng/mL, 51,5%, 186,5 U/L, 1,55 mg/dL, 0,39 mg/dL e 1,16 mg/dL. O perfil cromatográfico apresentou Hb S (87,7%), Hb F (1,3%) e Hb A2 (3,3%). A ELH em pH alcalino apresentou três frações, uma correspondente à Hb S e dois distintos, na região de Hb F. A eletroforese em pH ácido apresentou uma banda correspondente à Hb S e outra entre as regiões S e C. As

análises moleculares detectaram a presença de uma mutação no éxon 1 do HBB, HBB:c.20A>T (Hb S) e no éxon 2 do HBB, HBB:c.304G>C, ambas em heterozigose. **Discussão:** O hemograma não apresentou anemia para a idade, entretanto, possuía anisocitose às custas de micrócitos, policromasia e hemácias em alvo. O reticulograma apresentou aumento relativo e absoluto na contagem de reticulócitos, indicando um aumento de produção eritroide. O perfil no ferro não apresentou alterações. Os testes bioquímicos indicaram um quadro de hemólise, confirmado pela presença de bilirrubina total e indireta elevadas e aumento da LDH. A análise cromatográfica revelou um perfil hemoglobínico sugestivo de anemia falciforme, no entanto, a partir da observação do eritrograma e ausência de drepanócitos após microscopia complementar, a hipótese foi excluída. A realização de ELH em pH ácido e alcalino evidenciou a ausência de uma única banda no grupo S, comprovando que não se tratava de uma anemia falciforme, mas de uma doença falciforme em que a Hb variante possuía o mesmo RRT de Hb S em HPLC. As análises moleculares foram realizadas para o diagnóstico confirmatório, com a presença de mutações correspondentes a Hb S e Hb Rush. A Hb Rush é uma variante estrutural rara que resulta da substituição do aminoácido glutamato (carregado negativamente) pela glutamina (neutra) na posição G3, o que altera as propriedades funcionais da hemoglobina, incluindo instabilidade térmica, causando hemólise mesmo em heterozigose. **Conclusão:** A combinação de diferentes metodologias laboratoriais foi fundamental para o diagnóstico preciso deste caso, evitando assim interpretações errôneas e tratamentos inadequados.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.181>

CARACTERIZAÇÃO DAS MUTAÇÕES DE BETA TALASSEMIA EM PESSOAS COM DOENÇA FALCIFORME (HB S/BETA TALASSEMIA): EXPERIÊNCIA DE CINCO ANOS DE UM CENTRO DE REFERÊNCIA

JJR Silva ^a, BBV Marques ^a, IS Dias ^a, ACM Berti ^a, VS Ramos ^a, AC Purificação ^b, TRB Azevedo ^b, T Amorim ^b, DGH Silva ^a, E Belin-Junior ^a

^a Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

^b Serviço de Referência em Triagem Neonatal, Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE), Salvador, BA, Brasil

Objetivos: Realizar a caracterização de mutações de beta talassemia em pessoas com doença falciforme (Hb S/Beta-talassemia). **Material e métodos:** No período de cinco anos, 29 amostras de pessoas com diagnóstico molecular inconclusivo para a doença falciforme foram enviadas ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFMS/CPTL. As análises laboratoriais consistiram em cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (Ultra 2 Kit Resolution, Trinity Biotech) e análises moleculares por PCR-AE, PCR-RE e sequenciamento do gene HBB pelo método de Sanger. **Resultados:** Das 29

amostras avaliadas, 14 mutações de beta talassemia foram detectadas e apresentadas da seguinte forma: 03 HBB:c.-151C>G com Hb S (40,2% ± 5,4) e Hb A (29,9% ± 8,9); 04 HBB:c.118C>T com Hb S (51,4% ± 20,9); 04 HBB:c.92+5G>A com Hb S (50,5% ± 12,5) e Hb A (7,5% ± 12,2); 01 HBB:c.75T>A com Hb S (60,6%) e Hb A (16,9%); 01 HBB:c.93-21G>A com Hb S (77,7%); 03 HBB:c.92+6T>C com Hb S (60,3 ± 3,8) e Hb A (22,6% ± 5,4); 01 HBB:c.*110T>C com Hb S (59,5%); 05 HBB:c.-79A>G (-29>G) com Hb S (57,9% ± 4,3) e Hb A (14,3 ± 3,5); 01 HBB:c.93-2A>G com Hb S (64,9%); 01 HBB:c.316-7C>A com Hb S (48,9%) e Hb A (34,1%); 02 HBB:c.92+5G>C com Hb S (64,8% ± 7); 01 HBB:c.315+1G>A com Hb S (72,8%); 01 HBB:c.-126C>T com Hb S (45,5%) e Hb A (34,7%); e 01 HBB:c.48G>A com Hb S (72,6%). **Discussão:** A beta talassemia é resultante da redução parcial ou inibição total da produção de globinas. A combinação da hemoglobina (Hb) S com beta talassemia gera uma condição de heterozigoto composto conhecida como Hb S/Beta talassemia, que pode ser classificada conforme a expressão das globinas em Hb S/Beta0-talassemia e Hb S/Beta+-talassemia. No primeiro caso, como não há produção de Hb A, a clínica é quase indistinguível da anemia falciforme, já na Hb S/Beta+-tal, como ainda há presença de Hb A, o fenótipo é mais brando. Dentre as mutações encontradas, 07 foram classificadas como Beta+-tal (HBB:c.92+5G>A, HBB:c.75T>A, HBB:c.93-21G>A, HBB:c.92+6T>C, HBB:c.*110T>C, HBB:c.-79A>G e HBB:c.92+5G>C), 04 Beta0-tal (HBB:c.118C>T, HBB:c.93-2A>G, HBB:c.315+1G>A e HBB:c.48G>A) e 03 Beta+ silenciosa (HBB:c.-151C>G, HBB:c.316-7C>A e HBB:c.-126C>T). A caracterização adequada das mutações de Hb S/Beta-tal é importante para direcionamento de conduta médica adequada, aconselhamento genético e estudos de prevalência nas populações. **Conclusão:** As Hb S/Beta talassemia resultam de diferentes mutações e geram uma variedade de fenótipos, podendo levar a quadros muito semelhantes a anemia falciforme. O rastreamento e diagnóstico correto dessas mutações é essencial para ampliar o conhecimento e, conseqüentemente, melhorar o acompanhamento e tratamento.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.182>

PRIMEIRO RELATO DE BETA TALASSEMIA INTERMÉDIA HETEROZIGOTA COMPOSTA PARA HBB:C.48G>A (CÓDON 15) E HBB:C.137C>T (CÓDON 87)

KC Piva ^a, ACM Berti ^{a,b}, IS Dias ^a, LA Souza-Junior ^a, GA Bernardino ^{a,c}, L Gazarini ^a, DGH Silva ^{a,b}, E Belin-Júnior ^a

^a Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

^b Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

^c Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), São Luís, MA, Brasil

Objetivo: O estudo se refere ao relato de caso de uma criança com dupla heterozigose de beta talassemia, sendo portanto, o primeiro registro da interação entre as mutações HBB: