

the majority. However, it was noteworthy to observe a significant percentage of positive PNH cases among individuals under 20 years (12%) and over 60 years (23%). Abnormalities in other tests mainly occurred in hemogram parameters. Around 23% of cases presented clones in only one or two of the three evaluated cellular populations. Although our results represent a small sample, they can draw attention to the need for PNH investigation in individuals not belonging to the groups previously described with higher incidence or those showing alterations only in some other routine laboratory tests. In the case of rare diseases, clinical suspicion is a crucial step in diagnosis. Communication between physicians and the laboratory is vital in some cases, as it is an effective method to detect small PNH clones. The number of positive cases might be higher than believed due to the lack of testing and studies using a sensitive method, although one with a high cost for Brazil's reality.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.100>

#### APLASIA MEDULAR: ASPECTOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

LB Oliveira, LL Gatti, R Venerando, JCI Gazola

Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (UNIFIO), Ourinhos, SP, Brasil

**Introdução:** Quando se define em linhas gerais o que é a anemia, deve-se compreender a hemoglobina em valores abaixo do esperado, e de que ela é essencial para que a disseminação do oxigênio pelo organismo ocorra, dito isso, o comprometimento desta leva ao déficit de oxigênio dos órgãos, principalmente no sistema nervoso central, coração e músculos. Aplasia medular, ou Anemia Aplástica, se caracteriza pelo desequilíbrio hematopoietico, onde uma hipoplasia medular acarreta hipocelularidade percebendo-se uma pancitopenia pela diminuição das linhagens celulares de eritrócitos, leucócitos e plaquetas, classificando-se em primária (congenita) ou secundária. Doença que se caracteriza por pancitopenia, onde há uma substituição da medula hematopoietica por tecido gorduroso, que ocorre por ineficiência dessas células como forma de manter os fatores hematimétricos nas periferias do organismo. Tratamento de suporte hemoterápico, transplante de células-tronco hematopoieticas e tratamento com imunossuppressores são as possíveis opções para este paciente acometido de tal doença rara, mas que pode ser letal se não tratada a tempo. **Objetivos:** O presente trabalho procura evidenciar a importância ao estudo dessa doença hematológica, de seus desencadeantes, manifestações clínicas e da análise laboratorial minuciosa e correta. **Metodologia:** Este Trabalho é uma revisão bibliográfica descritiva, sem horizonte de tempo, para tanto buscou-se artigos e protocolos recentes para compor a pesquisa. Foram utilizados meios informatizados de pesquisa, excluindo documentos que não atendiam a proposta pretendida no trabalho. **Desenvolvimento e conclusões:** A Anemia Aplástica, ou também chamada Aplasia Medular, é uma doença que acontece por lesão bioquímica. O que ocorre é que a medula é invadida por tecido gorduroso não causando a não ser pancitopenia no

início de sua manifestação clínica, não sendo acometida nem por fibrose ou infiltrações leucêmicas, e justamente por esta pancitopenia, o indivíduo se torna suscetível a infecções e sangramentos, anemia grave apresentando neutropenia, plaquetopenia e eritrocitopenia, não apresentando adenomegalia ou esplenomegalia. Em linhas gerais, é uma anemia normocrômica, normocítica ou macrocítica com volume corpuscular médio entre 95 a 110 fL e hemoglobina abaixo de 10 g/dL, neutropenia menor que  $1,5 \times 10^3/\mu\text{L}$  e trombocitopenia menor que  $50 \times 10^3/\mu\text{L}$ , em casos mais graves a queda dos neutrófilos chega abaixo de  $0,5 \times 10^3/\mu\text{L}$  e plaquetopenia menos que  $20 \times 10^3/\mu\text{L}$ , reticulócitos menor que  $20 \times 10^3/\mu\text{L}$  e a celularidade da medula óssea menor a 25% apresentando em média 75% dos espaços medulares que deveriam conter tecido hematopoietico, substituídos por tecido gorduroso e não se encontram celularidade anormal em sangue periférico. Da realização do hemograma, encontram-se semelhanças à leucemia aguda aleucêmica onde restringe-se à medula e não se encontra blastos evidentes no sangue periférico, demonstrando ainda um sangue pancitopênico em que o avaliador da lâmina procure blastos leucêmicos em busca do diagnóstico. Além do hemograma, uma análise da medula é realizada para que um diagnóstico diferencial e seguro seja feito. Entendendo a complexidade e a raridade da Aplasia de Medula, o diagnóstico diferencial se torna a chave para um tratamento eficaz e precoce, por apresentar pancitopenia moderada a grave no sangue periférico e hipocelularidade na medula óssea, seu diagnóstico deve ser por exclusão, visto que outras afecções também manifestam pancitopenia. Argumenta-se que devido à uma agressão à célula tronco hematopoietica pluripotentes, ocorre-se uma diminuição ou até mesmo desaparecimento desta na medula óssea, se manifestando, portanto, de diversas formas diferentes entre os pacientes afetados.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.101>

#### MASS CYTOMETRY REVEALS A DISTINCT IMMUNOPHENOTYPE IN TELOMEROPATHIES

W Gomes<sup>a</sup>, V Carvalho<sup>a</sup>, E Martinez<sup>b</sup>, S Hama<sup>c</sup>, M Karimi<sup>c</sup>, G Napolitani<sup>c</sup>, G Mufti<sup>c</sup>, R Calado<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Medical Imaging, Hematology, and Clinical Oncology, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, Brazil

<sup>b</sup> Department of Social Medicine, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, Brazil

<sup>c</sup> Comprehensive Cancer Centre, King's College London, London, United Kingdom

Telomere-biology disorders (TBDs) are characterized by short telomeres and defective telomere repair, and clinical manifestations include bone marrow failure (BMF), myeloid neoplasms, fibrotic lung disease and liver cirrhosis. CD4<sup>+</sup> immunodeficiency has been described in patients with TBD, but no comprehensive profiling of immune cells has been

published to date. The aim of this study was to deep-phenotype lymphocytes, monocytes, natural killer (NK) and dendritic cells (DCs), and to measure serum cytokines, chemokines and growth factors from patients harboring telomere-related pathogenic variants and exhibiting clinical features of TBDs. 20 patients and 10 healthy individuals were recruited, and mass cytometry (CyTOF) analysis of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) was employed. A total of 32 serum cytokines, chemokines and growth factors were simultaneously measured by Luminex™. CyTOF showed that TBD patients had lower frequency of CD4<sup>+</sup> lymphocytes compared to controls ( $33 \pm 14\%$  vs.  $47 \pm 16\%$ ;  $p=0.031$ ), whereas the opposite was observed for CD8<sup>+</sup> cells ( $54 \pm 14\%$  vs.  $41 \pm 11\%$  in controls,  $p=0.034$ ). Accordingly, CD4/CD8 ratio was lower in patients ( $0.73 \pm 0.56$  vs.  $1.3 \pm 0.69$  in controls,  $p=0.050$ ). B cells count was also decreased ( $4.8 \times 10^4 \pm 5.0 \times 10^4 / 10^6$  cells vs.  $9.0 \times 10^4 \pm 3.4 \times 10^4 / 10^6$  cells in controls;  $p=0.0047$ ). Recent thymic emigrants (CD3<sup>+</sup>CD31<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>) and absolute counts of naïve CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and B cells were reduced ( $p < 0.01$ ), reflecting the thymic involution and marrow insufficiency normally seen in telomeropathies. Activated effector memory and TEMRA CD4<sup>+</sup> cells expressing exhaustion markers (C–D4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>/–CCR7–CD38<sup>+</sup>HLADR<sup>+</sup>Ki67<sup>+</sup>PD-1<sup>+</sup>TIGIT<sup>low</sup>) and proliferating switched memory B cells (CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>IgD–CD27<sup>+</sup>Ki67<sup>+</sup>) were higher ( $p=0.046$  and  $p=0.041$ , respectively) suggesting the occurrence of an inflammatory milieu, supported by the prevalence of CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> monocytes ( $2.6 \pm 1.8\%$  vs.  $0.81 \pm 0.28\%$  in controls;  $p=0.0042$ ). Regarding T helper cells, T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>17 and T<sub>H</sub>17.1 were decreased in patients ( $p < 0.05$ ), whereas the T<sub>H</sub>2/T<sub>H</sub>1 ratio was two times higher ( $1.6 \pm 0.83$  vs.  $0.82 \pm 0.39$  in controls;  $p=0.013$ ). Plasmacytoid DCs (CD3<sup>+</sup>CD141<sup>+</sup>CD123<sup>+</sup>CD1c<sup>+</sup>), known inducers of T helper differentiation, were reduced in patients ( $0.97 \pm 0.55$  vs.  $2.0 \pm 1.0\%$  in controls;  $p=0.014$ ). An effector double negative T cell population (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>Vd2–CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>Tbet<sup>+</sup>Granzyme B<sup>+</sup>) was significantly increased ( $6.1 \pm 6.0\%$  vs.  $1.3 \pm 1.1\%$  in controls;  $p=0.00017$ ). Circulating mucosal-associated invariant T (MAIT) cells (CD3<sup>+</sup>CD161<sup>high</sup>V7.2<sup>+</sup>) were markedly reduced ( $0.14 \pm 0.18\%$  vs.  $2.8 \pm 3.0\%$  in controls;  $p < 0.0001$ ) and, finally, a subset of immature NK cells (CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>) were more frequent in patients as compared to controls ( $p=0.026$ ). In addition, patients with TBD also display dysregulated cytokine levels. Telomere length positively correlated with angiopoietin-1, IL-1 superfamily, IL-3, IL-4, IL-7, IL-23, IL-27, M-CSF, MCP-1, MIP-3a and PDGF-BB, indicating that the shortest the telomere, the lowest the levels of these analytes. Taken together, our data show that TBDs feature a distinct immunophenotype, manifested through the depletion of CD4<sup>+</sup> T and B cells, skewing of helper T cells, accumulation of activated subpopulations expressing inflammatory markers and a dramatic decrease of circulating MAIT cells. Serum cytokines levels are also disrupted, potentially due to the cellular immunity being disturbed.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.102>

## POLIMORFISMOS GENÉTICOS E NÍVEIS DE FERRITINA EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME EM USO DE DEFERASIROX

ACV Almeida<sup>a</sup>, C Dinardo<sup>b</sup>, MC Ozahata<sup>a</sup>, B Custer<sup>c</sup>, EC Sabino<sup>a</sup>, S Kelly<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>b</sup> Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

<sup>c</sup> Vitalant Research Institute, San Francisco, United States

A anemia falciforme é um desafio de saúde pública devido à sua crescente prevalência. As transfusões de sangue são utilizadas para tratar a anemia e vasculopatia decorrentes dessa doença. As transfusões reduzem o risco de acidente vascular cerebral e melhoram a função dos órgãos. Um desafio das transfusões é a sobrecarga de ferro, que está associada a morbidade. Esses pacientes exibem particularidades no metabolismo e distribuição de ferro, e indicadores como a ferritina sérica e o ferro não ligado à transferrina estão relacionados ao número total de transfusões. A quelatação de ferro é essencial para os pacientes dependentes de transfusões, e a adequada remoção do ferro tem conexão com a melhoria da qualidade de vida e expectativa de vida. O Deferasirox é uma opção de quelante via oral a ser utilizado. A ferritina, uma proteína armazenadora de ferro, é um marcador relevante para a sobrecarga de ferro. Ao iniciar o tratamento com quelante, os níveis de ferritina são monitorados para avaliar a eficácia na redução de ferro. Os polimorfismos UGT1A1 rs887829 TT (homozigoto mutado) e CYP1A2 rs762551 CC (homozigoto referência) foram descritos na literatura como preditores de menores níveis de ferritina em pacientes com uso de deferasirox. Desse modo a compreensão da farmacogenômica do deferasirox permite a seleção de doses mais eficazes e com menos efeitos colaterais, com base nas variações genéticas individuais. A Base de Conhecimento de Farmacogenômica (PharmGKB) é uma fonte aberta de informações sobre o impacto das variantes genéticas na resposta aos medicamentos. **Objetivo:** Comparar a frequência de dois polimorfismos genéticos associados aos níveis de ferritina em pacientes com anemia falciforme em uso de Deferasirox entre a população do REDS-III e a população do TOPMED. Metodologia: cálculo da frequência alélica e genotípica com base no sequenciamento de genoma completo do projeto TOPMED, utilizando o teste qui-quadrado para verificar a significância das diferenças encontradas. **Resultados:** Na população falciforme, o polimorfismo UGT1A1 rs887829 ( $n=2635$ ) apresentou frequência de homozigotos referência de 38,10% ( $n=1004$ ), heterozigotos de 47,89% ( $n=1262$ ) e homozigotos mutados de 14,00% ( $n=369$ ). No TopMed ( $n=132345$ ), a frequência foi de 42,09% ( $n=55710$ ) para homozigotos referência, 44,69% ( $n=59156$ ) para heterozigotos e 13,20% ( $n=17479$ ) para homozigotos mutados. O valor do teste  $\chi^2$  é 16,93, e o valor de  $p < 0.01$ . Para o polimorfismo CYP1A2 rs762551, na população falciforme, a frequência de homozigotos referência foi de 13,16% ( $n=347$ ), heterozigotos de 44,47% ( $n=1172$ ) e