

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:

c.48G>A (Códon 15) e HBB:c.137C>T (Códon 87). **Materiais e métodos:** Uma amostra de sangue total de um paciente com 12 anos proveniente do estado do Maranhão (MA) foi encaminhada ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LGBM - UFMS/CPTL), juntamente às informações do indivíduo e seu hemograma para uma confirmação de diagnóstico de hemoglobinopatias. A análise cromatográfica foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), Trinity Biotech (Premier Resolution) e o DNA genômico foi extraído por fenol clorofórmio. A caracterização dos alelos mutantes para o gene HBB foi realizado por sequenciamento de DNA pelo método de Sanger e análise de Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal (PHHF) por PCR-Multiplex. **Resultados:** O hemograma do paciente evidenciou anemia hemolítica (reticulócitos = 166.300 mm³), microcítica (VCM = 62,5 fL) e hipocrômica (HCM = 20,60 pg), enquanto o resultado da cromatografia indicou Hb F (86,5%), Hb A (3,3%) e Hb A2 (2,7%), inicialmente levando à suspeita de heterozigose composta para beta talassemia e PHHF. Entretanto, a PCR-GAP não identificou mutações para PHHF. O sequenciamento demonstrou duas mutações, ambas em heterozigose, HBB:c.48G>A (Códon 15) e HBB:c.137C>T (Códon 87), ou seja, uma de Beta⁰ e uma de Beta⁺ talassemia, respectivamente. **Discussão:** Na presença de uma beta talassemia, a síntese da cadeia beta globina é reduzida (Beta⁺) ou ausente (Beta⁰), levando a formação de cadeias alfa globínicas em excesso, as quais são instáveis e precipitam nas membranas dos precursores eritróides e dos eritrócitos, ocasionando a eritropoiese ineficaz e a hemólise. Por isso, a anemia hemolítica, microcítica e hipocrômica detectada no hemograma indicou a existência desta hemoglobinopatia, a qual por apresentar uma ampla variedade de alterações genéticas, se faz essencial a realização do sequenciamento a fim da correta identificação da mutação no gene HBB. A PHHF foi investigada pela alta concentração de HbF para idade do investigado, porém não condizente com perfil do hemograma. Dessa forma, a amostra foi sequenciada e duas mutações foram detectadas sendo equivalentes a uma redução parcial e uma total da síntese das cadeias beta-globina. Ou seja, um dos alelos não sintetiza cadeia beta-globina, enquanto o outro produz em baixa concentração, explicando os níveis reduzidos de HbA. A elevação da HbF se trata de uma reação de compensação, em que o gene gama, localizado no cluster do gene HBB, é hiperexpresso para suprir a demanda da beta-globina deficiente. **Conclusão:** A associação de diversas metodologias de análises hematológicas e moleculares laboratoriais foi determinante para o diagnóstico preciso do paciente, dado que a beta talassemia apresenta vasta possibilidades de mutações, especialmente as de ponto. Além disso, a determinação acurada da hemoglobinopatia serve de base para o tratamento e cuidado adequado ao indivíduo, além de ser essencial para o responsável pelo aconselhamento genético à família e ao afetado.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.183>

ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO RS10754558 DO GENE NLRP3 COM A OCORRÊNCIA DE COMPLICAÇÕES CLÍNICAS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ANEMIA FALCIFORME

AP Silva^a, GS Arcanjo^a, TDS Sena^a, MV Diniz^a,
LE Oliveira^a, AS Araujo^b, ACMD Anjos^{a,b},
BLD Hatzlhofer^a, AR Lucen-Araujo^a,
MAC Bezerra^a

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

^b Fundação de Hematologia e Hemoterapia de
Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil

Introdução/Objetivos: A anemia falciforme (AF) é uma doença decorrente da presença da hemoglobina S, que se polimeriza causando a falcização das hemácias. A AF é caracterizada por quadro hemolítico e inflamatório crônico causando grande variabilidade clínica. Foi apontado que o grupo heme e hemoglobina livres oxidada promovem a ativação do complexo inflamassoma NLRP3. O objetivo deste trabalho foi investigar a associação do polimorfismo rs10754558 do gene NLRP3 com a ocorrência de complicações clínicas em pacientes pediátricos com AF. **Material e métodos:** Os pacientes foram atendidos pelo ambulatório de pediatria da Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE). Foram incluídos pacientes com idade ≤ 18 anos e de ambos os sexos. Dos prontuários foram avaliadas as seguintes complicações clínicas: sequestro esplênico agudo (SEA), dactilite, frequência de crises de dor, priapismo, síndrome torácica aguda, colelitíase e doença cerebrovascular, que inclui casos de acidente vascular cerebral (AVC), Doppler transcraniano de alto risco, Moya-Moya, ataque isquêmico transitório e infarto silencioso. A análise molecular foi realizada através de qPCR utilizando o sistema de sondas TaqMan®. As análises estatísticas foram realizadas utilizando os softwares SPSS Statistics 19.0 e GraphPad Prism (version 6.0). **Resultados:** Foram incluídos na coorte 369 pacientes; sendo 182 (49,3%) do sexo feminino e 187 (50,7%) do sexo masculino, com mediana de idade 13 anos (04 a 18 anos). A dactilite foi a complicação de maior prevalência (31,1%), seguido de SEA (21,2%), colelitíase (20,4%), síndrome torácica aguda (7,0%) e AVC (4,7%). A doença cerebrovascular esteve presente em 11,2% dos pacientes. Por fim, 13,2% dos pacientes de sexo masculino desenvolveram priapismo. A análise molecular demonstrou uma frequência genotípica de 158 CC (42,8%), 171 CG (46,4%) e 40 GG (10,8%); com a frequência alélica de C 0,66 e G 0,34. Para as análises de associação, de acordo com o modelo dominante, foi observado menor frequência de SEA nos pacientes de genótipo selvagem CC (p = 0,003; OR: 0,42; IC 95%: 0,24 – 0,73). A análise alélica para recorrência de SEA demonstrou que o alelo variante G estava associado com maior número de eventos comparado ao alelo selvagem C (p = 0,0014). **Discussão:** O SEA resulta do rápido aprisionamento de hemácias no baço, podendo levar a diminuição do volume sanguíneo circulante, choque hipovolêmico e morte. Eventos clínicos como a febre e infecção foram comuns em concomitância com um episódio