

# REVISTA BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA

BRAZILIAN JOURNAL OF HEMATOLOGY AND HEMOTHERAPY

VOLUME 39, NOVEMBER 2017, SUPPLEMENT 1

CONGRESSO BRASILEIRO DE HEMATOLOGIA, HEMOTERAPIA  
E TERAPIA CELULAR – HEMO 2017

8-11 November 2017  
Curitiba, PR, Brazil

Official organ of Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular (ABHH), Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea (SBTMO), Associazione Italo-Brasileira di Ematologia (AIBE), and Sociedade Brasileira de Oncologia Pediátrica (SOBOPE)

## 85. INIBIÇÃO DA VIA DAS RHO-QUINASES SOBRE A INTERAÇÃO LEUCÓCITO-ENDOTÉLIO EM CAMUNDONGOS TRANSGÊNICOS PARA ANEMIA FALCIFORME

Moraes AR, Chweih H, Conran N, Fertrin KY, Costa FF, Franco-Penteado CF

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

**Introdução:** A vaso-oclusão na anemia falciforme (AF) resulta de um processo complexo que envolve diferentes mecanismos e interações dos glóbulos vermelhos, leucócitos, células endoteliais, plaquetas e proteínas plasmáticas. A via da Rho-quinase (Rock) parece ter um papel importante nos mecanismos moleculares da quimiotaxia, adesão e migração de várias células inflamatórias. Dados do nosso grupo indicam que esta via tem papel importante na adesão dos eosinófilos de pacientes com AF ao endotélio. Nos estudos *in vivo* utilizando camundongos falciformes, a inflamação pulmonar induzida pela OVA foi significativamente diminuída pelo tratamento com os inibidores da Rock. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do tratamento com o inibidor de Rock (Fasudil) no processo de transmigração dos leucócitos na microcirculação em modelo de inflamação alérgica em camundongos falciformes. **Métodos:** Foram utilizados camundongos machos da linhagem C57BL/6JuniB (controle, C) e camundongos transgênicos para AF modelo Townes heterozigotos (Het) e homozigotos (SS). Os animais foram imunizados com injeção subcutânea no dorso de OVA grau V no dia zero e reforço no dia 7. Após 14 dias, os animais foram tratados com o Fasudil (10 mg/kg, ip) 1 hora antes do desafio com eotaxina (100 ng por dose, sc). Quatro horas depois, os animais foram cirurgicamente preparados para microscopia intravital. **Resultados:** Nossos resultados mostraram que após 4 horas do desafio com eotaxina foi observado um aumento no número de leucócitos em rolamento (SS:  $23 \pm 1,9$ ; Het:  $12,2 \pm 1,3$ ; C:  $15,14 \pm 1,2$  leucócitos/ $\text{min}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ , respectivamente) e aderidos (SS:  $16,3 \pm 0,9$ ; Het:  $12,5 \pm 0,6$ ; C:  $11,7 \pm 0,5$  leucócitos aderidos  $100 \mu\text{m}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ , respectivamente) em todos os grupos investigados, porém, esse aumento é maior quando comparamos os animais SS com os animais do grupo controle. Resultado semelhante foi observado em relação à transmigração dos leucócitos (SS:  $3,9 \pm 0,3$ ; Het:  $2,8 \pm 0,2$ ; C:  $2,4 \pm 0,2$  leucócitos extravasados per  $100 \times 50 \mu\text{m}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ , respectivamente). O tratamento com o inibidor de ROCK, Fasudil, reduziu significativamente tanto o rolamento quanto a adesão das células ao endotélio vascular do musculo cremaster nos animais falciformes e do grupo controle (SS:  $13,2 \pm 1,4$ ; C:  $7,5 \pm 0,7$  leucócitos/ $\text{min}^{-1}$  e SS:  $6 \pm 0,4$ ; C:  $4,9 \pm 0,3$  leucócitos aderidos  $100 \mu\text{m}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ , respectivamente). Em relação à transmigração, o tratamento com Fasudil foi capaz de reduzir significativamente somente o extravasamento dos leucócitos nos animais SS (SS:  $2,15 \pm 0,22$  e C:  $2,03 \pm 0,2$  leucócitos extravasados per  $100 \times 50 \mu\text{m}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ , respectivamente). **Discussão:** Nossos dados indicam que via das RhoGTPases está alterada na AF e participa do processo de diapedese dos leucócitos e consequentemente do processo de vaso-oclusão. Esses dados corroboram com a hipótese de que alterações nessa via modulam diferentes aspectos da fisiopatologia da doença. **Conclusão:** O tratamento com o inibidor de ROCK é capaz de reduzir a interação do leucócito com o endotélio vascular no modelo de inflamação alérgica e indicam que esses inibidores podem ter efeitos benéficos no tratamento das complicações clínicas da doença. **Financiamento:** Fapesp.

## 86. EXPRESSION OF TISSUE FACTOR BY MONOCYTES AS THROMBOTIC RISK IN SICKLE CELL DISEASE: CORRELATION WITH MARKERS OF HEMOLYSIS AND COAGULATION

Resende GAD<sup>a</sup>, Vito FB<sup>a</sup>, Carlos AM<sup>a</sup>, Bereta BM<sup>a</sup>, Leal AS<sup>a</sup>, Filho IRS<sup>b</sup>, Silva VPSP<sup>b</sup>, Moraes-Souza H<sup>a</sup>, Soares-Silva S<sup>a</sup>, Martins PRJ<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brazil

<sup>b</sup> Hemocentro Regional de Uberaba, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Belo Horizonte, MG, Brazil

**Objective:** To quantify the expression of tissue factor by monocytes in individuals with sickle cell disease (SCD) and correlate with markers of hemolysis and coagulation. **Material and Methods:** We evaluated 46 individuals with SS, SC, S $\beta$  and SF out of crisis in the Hematology Department of the Federal University of Triângulo Mineiro/UFTM, and the control group consisted of 26 donors of blood from the Uberaba Regional Hemocenter (HRU)/Hemominas Foundation with AA genotype, matched by sex and age. Tissue factor quantification was performed in peripheral blood by flow cytometry using anti-CD14, anti-CD16, anti-HLA-DR and

anti-CD142 antibodies. Quantification of hemolysis markers (hemoglobin, DHL, reticulocytes, bilirubins) and coagulation (platelets, fibrinogen, TAP, TTPA and D dimer) was performed in the clinical analysis laboratory of the UFTM. **Results:** The mean age of the study population was 31 years, with a predominance of women (67%). Patients had a higher expression of tissue factor than the control group (16.4% versus 6.4%,  $p < 0.0001$ ), decreased levels of Hb ( $p = 0.0001$ ) and fibrinogen ( $p = 0.0381$ ), high levels of DHL ( $p = 0.0001$ ), BI ( $p = 0.0873$ ), D dimer ( $p = 0.0012$ ), high reticulocyte count ( $p = 0.0001$ ), platelets ( $p = 0.0001$ ) and absolute monocytes count ( $p = 0.0003$ ). We also observed that tissue factor expression showed a negative correlation with hemoglobin levels ( $r = -0.52$ ) and positive correlation with DHL ( $r = 0.49$ ), ferritin ( $r = 0.47$ ), TAP ( $r = 0.45$ ), plasma levels D dimer ( $r = 0.18$ ), fibrinogen ( $r = 0.14$ ), platelet count ( $r = 0.38$ ) and absolute monocytes count ( $r = 0.30$ ). **Discussion:** Clinical and experimental studies have shown that hemolytic anemias frequently occur with a chronic hypercoagulability state, evidenced by higher thrombin generation. Hemostatic changes in patients with SCD are multifactorial, and studies have suggested that increased tissue factor expression and intravascular hemolysis may modulate its severity. In our study, the patients presented higher expression of tissue factor and elevated levels of D dimer, suggesting coagulation activation. High levels of DHL, indirect bilirubin, reticulocyte counts, and low hemoglobin levels evidenced the hemolytic changes in these patients, which would trigger a greater release of free heme, a toxic molecule with potential expression of tissue factor and pro-coagulant activity, with consequent greater generation of thrombin. The increased expression of tissue factor by monocytes and changes in markers of hemolysis and coagulation may show a state of activation coagulation/hypercoagulability. **Conclusion:** In our study, the greater expression of the tissue factor and its correlation with markers of hemolysis and coagulation suggest a state of hypercoagulability/consumption, which may contribute to an increase in thrombotic risk, leading to severe complications such as pulmonary hypertension and stroke in patients with SCD. **Funding:** FAPEMIG, UFTM, Fundação Hemominas.

## 87. CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES PORTADORES DE ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE ATENDIDOS NO HCPA

Durigon G, Sekine L, Franz JPM, Fogliatto LM, Freja AFG, Ludwig MV, Vargas A, Molin CF, Silla LMR, Paz AA

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

**Introdução:** A anemia hemolítica autoimune (AHA) é caracterizada pela destruição das hemácias causada por autoanticorpos e a corticoterapia é o tratamento inicial. **Objetivo:** Analisar o perfil clínico-laboratorial e a evolução dos pacientes com AHA assistidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). **Métodos:** Estudo retrospectivo observacional realizado através de coleta de dados de prontuários, no período de fevereiro de 2005 a junho de 2017. Os pacientes foram selecionados a partir do teste de Coombs direto (CD) positivo, sendo incluídos apenas aqueles com quadro de anemia hemolítica. Foram analisados raça, idade, sexo, exames ao diagnóstico, tratamento(s) indicado(s) e a resposta observada, realização ou não de transfusão de concentrado de hemácias (CHAD) e evolução clínica. Os dados foram avaliados através do programa IBM SPSS v.22. **Resultados:** A amostra foi composta por 67 pacientes, com mediana de idade ao diagnóstico de 46 anos (0,16-85), sendo 83,6% caucasianos e 52,2% do sexo feminino. Em relação aos exames ao diagnóstico, as medianas encontradas foram: Hb: 6,10 g/dL (2,3-10,6); reticulócitos: 5,4% (1,18-31,5); LDH: 800 U/L (238-5987); bilirrubina indireta: 0,9 mg/dL (0,1-8,6). Todos os pacientes foram testados para HIV, hepatites B e C: 13% dos casos foi positivo para HIV, 10,3% para HCV e 2 pacientes eram positivos para HCV e HIV; 10/59 pacientes com teste reagente para CMV e 4/59 para Epstein-Barr. Analisando as provas de CD, 56,7% dos pacientes obtiveram CD monoespecífico IgG positivo e 10,4%, CD monoespecífico IgM positivo. Em relação às doenças associadas, em 47,8% foram hematológicas, destacando-se, em ordem decrescente de frequência, síndrome de Evans, LLC, linfoma, SMD e situações pós-TCTH alogênico; em 19,4% foram autoimunes, sendo lúpus eritematoso sistêmico a mais comum (16,4%). A taxa de resposta dos pacientes aos tratamentos empregados foi de 82,1%. Fizeram uso de corticoide em monoterapia, 73,1% dos pacientes; 14% necessitou de algum imunossupressor ou imunomodulador e 4 pacientes receberam imunoglobulina humana. Em razão da refratariedade ao tratamento medicamentoso, 6 pacientes foram submetidos à esplenectomia, sendo que todos mantiveram resposta sustentada após o procedimento. Transfusão de CHAD foi realizada em 35%

(18/51) dos pacientes, em 16/67 essa informação não estava disponível no momento da análise. Foram documentados apenas 3 óbitos, sendo apenas um relacionado à AHAI; tratava-se de paciente com síndrome de Richter que desenvolveu quadro hemolítico grave, sem reposta à corticoterapia, evoluindo ao óbito 5 dias após internação hospitalar. **Discussão:** A AHAI é uma doença rara, com poucos estudos clínicos randomizados para auxiliar na definição das respostas e do melhor tratamento. Em parte, isso se deve à heterogeneidade em relação ao tipo de anticorpo e à existência ou não de outra doença subjacente. Assim, as decisões terapêuticas devem seguir uma detalhada investigação diagnóstica. **Conclusão:** Este estudo permitiu demonstrar que, na amostra analisada, a AHAI foi um fato raro, em sua maioria associado à doença hematológica ou autoimune, onde a monoterapia com corticoide foi eficaz na maior parte dos casos. Como, ainda hoje, não há um consenso sobre o melhor tratamento, trabalhos que identifiquem essa população são extremamente válidos. A partir dos dados retrospectivos, uma coorte prospectiva e multicêntrica será estudada.

### 88. PREVALÊNCIA DA DEFICIÊNCIA DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE EM RECÉM-NASCIDOS DO ESTADO DE SERGIPE

Oliveira DA<sup>a</sup>, Santos YLDCOD<sup>b</sup>, Barreto LAS<sup>b</sup>, Santos YLLF<sup>b</sup>, Silva COS<sup>b</sup>, Almeida LO<sup>b</sup>, Oliveira LMV<sup>b</sup>, Costa AFO<sup>b</sup>, Cipolotti R<sup>b</sup>, Lima DMSM<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Hospital Universitário, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, Brasil

**Objetivos:** A deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é uma doença genética recessiva ligada ao cromossomo X, induzida por estresse oxidativo, alimentos, medicamentos e infecções por microrganismos. No mundo, a prevalência da deficiência da G6PD é de 12%, variando de acordo com a etnia, sendo as maiores taxas encontradas na região subsaariana (23-39%) e as menores, nos grupos indígenas da América Latina (0,28-6,22%). No Brasil, esta prevalência ainda não está totalmente estabelecida, mas estima-se que pode variar entre 1,5-6,5%. Em virtude da relevância e de poucos estudos realizados no Brasil, o objetivo deste trabalho foi detectar a prevalência da deficiência da G6PD em recém-nascidos do estado de Sergipe. **Material e métodos:** Foram analisadas amostras de sangue obtidas por punção calcânea armazenadas em papel de filtro, de recém-nascidos do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) do estado de Sergipe, entre agosto/2016 e janeiro/2017. A dosagem da G6PD foi realizada utilizando o kit neonatal G6PD (PerkinElmer, Turku, Finlândia), que adota metodologia quantitativa com análise por fluorimetria por tempo resolvido. Casos positivos foram confirmados em nova amostras pelas metodologias de fluorimetria por tempo resolvido e teste qualitativo de Brewer. Nestes casos, foram ainda realizados hemograma, contagem de reticulócitos e dosagem de bilirrubina para avaliação da anemia. Os pacientes cuja deficiência enzimática foi comprovada participaram de avaliação clínica e aconselhamento genético. **Resultados:** Foram analisadas 11.677 amostras, das quais 2.637 fizeram parte da primeira etapa de padronização da técnica. Das 9.040 amostras da segunda etapa, 3.274 foram excluídas por má qualidade, restando 5.766 amostras para dosagem de G6PD. A prevalência obtida nesse estudo foi de 9,35%, sendo 4,87% no sexo masculino e 3,33% no sexo feminino. Foram convocados aleatoriamente 100 recém-nascidos com resultados positivos para a deficiência de G6PD para realização de testes confirmatórios. Compareceram 50 crianças acompanhadas dos pais, dos quais 20 crianças (40%), 18 meninos e 2 meninas, tiveram a deficiência confirmada. Das 50 crianças testadas, 4 apresentaram anemia; 3, reticulocitose; e 2, hiperbilirrubinemia, sem apresentar relação com a deficiência da enzima. **Discussão:** A prevalência da deficiência da G6PD no estado de Sergipe está acima das encontradas em outros estados brasileiros, como Distrito Federal e Mato Grosso, nas quais, em estudos semelhantes com recém-nascidos do PNTN, foram detectados 2,9% e 1,76%, respectivamente. Este aumento de prevalência pode estar relacionado com a descendência da população africana no estado de Sergipe e com as altas temperaturas observadas no período, que podem ter influenciado negativamente na atividade enzimática da G6PD. Isto, associado ao grande número de amostras descartadas por má qualidade — cerca de 36%, alerta para a pouca viabilidade de se realizar este teste como rotina do PNTN, principalmente nos estados da região Nordeste. **Conclusão:** Com este estudo pode-se concluir que a alta prevalência da deficiência da G6PD no estado de Sergipe pode ser causada por problemas operacionais ou pelos grupos étnicos africanos presentes no estado. Em estados com altas temperaturas na maior

parte do ano, seria mais adequado transporte refrigerado, para melhor conservação das amostras.

### 89. AVALIAÇÃO DO PERFIL INFLAMATÓRIO DE PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME EM USO TERAPÊUTICO DE HU: EFEITO DOSE DEPENDENTE

Bandeira ICJ, Mota AGM, Magalhães SMM, Lemos RPG

Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

**Introdução:** A anemia falciforme (AF) é uma doença autossômica recessiva que resulta de uma mutação pontual no sexto códon do gene da beta globina, levando à substituição da adenina por timina (GAG GTG), o que resulta na produção do aminoácido valina no lugar do ácido glutâmico, originando a hemoglobina S. A polimerização da HbS, quando desoxigenada, leva as hemácias a adotarem a forma de foice, acarretando uma maior propensão de aumento na adesão das hemácias ao endotélio que desencadeia fenômenos inflamatórios; enrijecimento da membrana das hemácias, promovendo o encurtamento da sua sobrevida na circulação; lesões microvasculares; vasoconstrição; e ativação da coagulação. A ocorrência de vaso-oclusões representa o evento fisiopatológico determinante na clínica da AF, que culmina com crises algícas e hemolíticas; úlceras de membros inferiores; síndrome torácica aguda; sequestro esplênico; priapismo; necrose asséptica de fêmur; retinopatia; insuficiência renal crônica e acidente vascular cerebral. O tratamento com hidroxiureia (HU) consiste em inibir a enzima ribonucleotídeo redutase que contém duas moléculas de ferro. A partir desse mecanismo, é possível reduzir a produção de glóbulos vermelhos contendo HbS e favorecer a produção de eritrócitos contendo um elevado nível de HbF. **Objetivo:** O objetivo do trabalho foi investigar a influência do tempo e dose da terapia com HU nos níveis dos marcadores inflamatórios PCR-us, TNF- $\alpha$  e IL-10 de pacientes com AF acompanhados em hospital de referência em Fortaleza (CE). **Metodologia:** A casuística foi composta por 67 pacientes adultos em uso de HU de ambos os sexos, com diagnóstico clínico e molecular de AF. As citocinas foram determinadas pelo método ELISA, enquanto a PCR-us pela metodologia de turbidimetria. A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa GraphPad Prism 5.0 e teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn. O nível de significância foi fixado em 5% ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** Os pacientes foram estratificados de acordo com a dose de HU ( $\geq 20$  mg/kg/dia ou  $< 20$  mg/kg/dia) e o tempo de tratamento ( $\geq 20$  meses ou  $< 20$  meses). Pacientes em uso de HU por tempo igual ou superior a 20 meses apresentaram níveis diminuídos de PCR-us ( $p < 0,05$ ) e de IL-10 ( $p < 0,01$ ). Embora os níveis de TNF- $\alpha$  não tenham demonstrado uma diferença significativa com  $p < 0,05$ , observa-se uma tendência de diminuição nos pacientes em tratamento prolongado ( $26,70 \pm 7,638$ ) quando comparados à pacientes com tempo menor de terapia ( $10,54 \pm 1,70$ ). A dose de HU também foi importante para diminuição dos marcadores inflamatórios. Pacientes em uso de maior dosagem de HU ( $\geq 20$  mg/kg/dia) apresentaram diminuição significativa nos valores de TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ) e IL-10 ( $p < 0,01$ ) e ainda tendência em diminuição da PCR-us ( $6,550 \pm 0,6905$ ) quando comparados à pacientes com menor concentração de HU/ peso/ dia ( $5,167 \pm 0,5087$ ). **Conclusão:** A partir desses resultados, novas propostas terapêuticas podem ser implementadas, uma vez que os pacientes com AF em uso de HU por menor tempo e em menor concentração demonstraram um perfil inflamatório exacerbado em relação ao outro grupo de pacientes com tratamento mínimo de 20 meses e 20 mg/kg/dia.

### 90. POLIMORFISMO DO GENE PADI4 COMO FATOR DE RISCO PARA A SÍNDROME TORÁCICA AGUDA NA ANEMIA FALCIFORME

Chenou F<sup>a</sup>, Houkpe BW<sup>b</sup>, Albuquerque DM<sup>c</sup>, Domingos IF<sup>d</sup>, Araújo AS<sup>e</sup>, Bezerra MAC<sup>d</sup>, Costa FF<sup>c</sup>, Sonati MF<sup>a</sup>, Paula EV<sup>c</sup>, Santos MNN<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

<sup>b</sup> Departamento de Fisiopatologia Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

<sup>c</sup> Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

<sup>d</sup> Programa de Pós-graduação em Genética, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

<sup>e</sup> Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil