

with SCD (89.3% with SCA HbSS genotype: 10.7% with HbSC genotype) with a mean age of 17.9 ± 11.5 y and 51.61% of the cohort were women. We measured the levels of total hemoglobin, hematocrit, global leukometry, reticulocytes (%) and HbF during 18 months of HU therapy (range, 5-32 mg/kg) at the Hematology and Hemotherapy Center of Governador Valadares, Minas Gerais. Genotypes for BCL11A SNPs were determined by TaqMan® allele discrimination assays, and HbF levels were measured by HPLC. We observed an increase in hemoglobin ($7.6\text{--}9.4$ g/dL, $p < 0.0001$), hematocrit ($23.0\text{--}28.0\%$, $p < 0.0001$), and especially HbF concentration ($5.3\text{--}15\%$, $p < 0.0001$) during the 18 months, of HU therapy. In addition, reticulocytes and overall leukocyte count showed a decrease over the 18 months ($3.65\text{--}1.9\%$ and $13300\text{--}7200$ mm³, respectively). Patients carrying genotypes with the minor alleles for both BCL11A SNPs (AG+AA for rs4671393 and AC+CC for rs766432) did not show differences in HbF concentration before and after HU therapy compared to genotypes with wild-type alleles (GG for rs4671393 and AA for rs766432). However, the mean ($\pm$ S.D.) for HbF concentration was numerically higher for AC+CC genotypes ($16.69 \pm 8.86\%$; $n = 33$) than the AA genotype ($13.62 \pm 6.96\%$; $n = 60$) for the rs766432, and for patients carrying the GA+AA genotypes ($16.55 \pm 8.77\%$; $n = 34$) than the GG genotype ($13.65 \pm 7.02\%$; $n = 59$), although these differences did not reach significant level (rs766432, $p = 0.068$; and rs4671393, $P = 0.0832$). For rs4671393, median for HbF levels were higher after than before HU therapy both in GG genotype (5.0 vs. 13.0% ; $p < 0.0001$) and AG+AA genotypes (5.5% vs. 15.85 ; $p < 0.0001$). For rs766432, HbF concentration was higher in carriers with AA genotype (5.0 vs. 12.65% ; $p < 0.0001$) and AC+CC genotypes (5.4 vs. 16.0% ; $p < 0.0001$). Our findings do not support the role of BCL11A SNPs rs4671393 and rs766432 in the increase of HbF concentration in response to HU therapy, which may be explained by the small number of patients with SCD analyzed. However, our findings are in line with a systematic review showing that BCL11A SNPs may partially explain the interindividual variability in the increase in HbF expression upon HU therapy. Replication studies should consider increasing the number of patients with SCD analyzed.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.065>

DEGRADADORES DE HISTONA DEACETILASE PARA INDUÇÃO DE HEMOGLOBINA FETAL

AR Pavan^a, VGF Pastre^a, C Lanaro^a,
DM Albuquerque^a, JP Smalley^b, U Patel^b,
JWR Schwabe^c, SM Cowley^d, JT Hodgkinson^b,
JLD Santos^e, FF Costa^a

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Leicester Institute of Structural and Chemical Biology and School of Chemistry, University of Leicester, Leicester, Reino Unido

^c Leicester Institute of Structural and Chemical Biology and Department of Molecular and Cell Biology, University of Leicester, Leicester, Reino Unido

^d Department of Molecular and Cell Biology, University of Leicester, Leicester, Reino Unido

^e Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara, SP, Brasil

A indução da produção de hemoglobina fetal (HbF) é capaz de inibir a polimerização da hemoglobina S (HbS) presente na anemia falciforme e minimizar as manifestações clínicas da doença. A modulação de enzimas epigenéticas responsáveis pela repressão do gene HBG1/2, como as histonas deacetilases 1 e 2, apresentam-se como uma estratégia promissora para indução de HbF. Os objetivos do trabalho foram a avaliação farmacológica de moléculas degradadoras de HDAC 1 e 2 para indução de HbF. As células utilizadas para quantificação de degradação de HDACs 1 e 2 foi a HCT-116 e o ensaio foi realizado através de western blot quantitativo. As células utilizadas para indução de HbF foi a HUDEP-2, em que se utilizou qPCR para quantificação de mRNA de HBG1/2 e citometria de fluxo para avaliação da porcentagem de células positivas para HbF. Foram planejadas e sintetizadas novas moléculas capazes de promover a degradação seletiva das HDACs 1 e 2 através da formação de um complexo ternário entre HDACs-1/2 e a enzima E3-ligase denominada cereblon. A formação desse complexo leva a ubiquitinação das enzimas alvo e posterior degradação via proteossoma. Treze moléculas foram sintetizadas e avaliadas em células HCT-116 em relação à degradação das HDACs 1, 2 e 3, resultando em três promissores compostos (I, II e III) com diminuição seletiva dos níveis de HDAC-1 e valor de DC_{50} de $2,5 \mu\text{M}$. O composto III foi então selecionado para avaliação em células HUDEP-2, nas concentrações de 500nM e 750nM, e tempo de tratamento de 72h e 96h. A análise de qPCR mostrou um aumento significativo nos níveis de mRNA de HBG1/2, sendo este de 26,9x e 35,5x nas concentrações de 500nM e 750nM, respectivamente, em 72h quando comparados com o controle (CTRL = $0,027 \pm 0,006$ unidades arbitrárias (u.a.) vs 500nM = $0,73 \pm 0,25$ u.a. e 750nM = $0,96 \pm 0,11$ u.a., $p < 0,0001$, $n = 4$). Em 96h, o aumento foi de 34x e 44,5x, respectivamente, (CTRL = $0,034 \pm 0,012$ u.a. vs 500nM = $1,12 \pm 0,35$ u.a. e 750nM = $1,52 \pm 0,37$ u.a., $p < 0,0001$, $n = 4$). Após o tratamento, as células foram marcadas utilizando-se anticorpos anti-HbF para quantificação da porcentagem de células positivas para HbF, onde foi observado um aumento de 7,5x e 9x nas concentrações de 500nM e 750nM, respectivamente, em 72h (CTRL = $0,58 \pm 0,15$ % vs 500nM = $4,43 \pm 0,88$ % e 750nM = $5,29 \pm 1,52$ %, $p < 0,0001$, $n = 4$), enquanto que o aumento em 96h foi de 8,3x e 10,6x, respectivamente (CTRL = $0,65 \pm 0,15$ % vs 500nM = $5,44 \pm 0,79$ % e 750nM = $6,89 \pm 1,05$ %, $p < 0,0001$, $n = 4$). O tratamento realizado com hidroxiuréia, fármaco padrão, à $100 \mu\text{M}$, resultou num aumento máximo dos níveis de mRNA de HBG1/2 de, aproximadamente, 10x em 72h e num aumento na porcentagem de células HbF-positivas de 8,5x e 8,9x em 72h e 96h, respectivamente (CTRL 72h = $0,66 \pm 0,23\%$ vs HU 72h = $5,65 \pm 0,59\%$, CTRL 96h = $0,64 \pm 0,15\%$ vs HU 96h = $5,73 \pm 0,52\%$; $p < 0,0001$, $n = 2$). Os dados obtidos demonstram que as moléculas sintetizadas apresentam seletividade de degradação contra HDAC-1, o que ainda não havia sido descrito na literatura. Além disso, a molécula III demonstrou ser mais efetiva quando comparada a HU, com atividade de indução da

expressão do gene HBG1/2 2,6x maior, em uma concentração 200x menor. Estes resultados dão suporte para a continuação dos estudos da molécula III em ensaios pré-clínicos como potencial indutora de HbF para tratamento de hemoglobinopatias.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.066>

PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA IMUNE POR ANTICORPO NÃO INIBITÓRIO

CMB Junior^a, KB Fonseca^a, CA Mesquita^a,
RC Marques^a, TA Barros^b, FM Bandeira^c

^a Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE),
Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio
de Janeiro, RJ, Brasil

^b Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
(HUCFF), Universidade Federal do Rio de Janeiro
(UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do
Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ,
Brasil

Introdução: A Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) faz parte de um grupo heterogêneo de doenças raras que têm como manifestações cardinais trombocitopenia e anemia hemolítica microangiopática associados a lesão orgânica. Ela ocorre quando existe uma deficiência hereditária ou adquirida de ADAMTS13, levando a um acúmulo de grandes multímeros de von Willebrand. Sua forma adquirida imune (PTTi) corresponde a aproximadamente 95% dos casos de PTT no adulto. Na maioria das vezes, anticorpos inibitórios são detectados durante a fase aguda, mas em poucos casos esses anticorpos podem não ser identificados, sugerindo outros mecanismos mais raros. **Objetivo:** Descrever caso de PTTi com anticorpo não inibitório acompanhado no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE). **Caso:** Paciente de 23 anos, feminina, sem comorbidades, transferida ao HUPE para investigação de bicitopenia aguda (anemia e trombocitopenia). Hemograma com microcitose e hematoscopia com inúmeros esquizócitos. PLASMIC score: 7 pontos, o que motivou o início de plasmáfereze. Retrospectivamente, paciente referia lesões cutâneas vesicobolhosas em regiões fotoexpostas e episódios de artralgia. Após exames demonstrarem complemento sérico consumido, FAN > 1:640, anti-DNA > 1:160, com sedimento urinário nefrítico, fez-se diagnóstico de Lúpus. Paciente iniciou imunossupressão com pulsoterapia de metilprednisolona e ciclofosfamida. Confirmado diagnóstico de PTT após resultado de atividade de ADAMTS13 de 1,2%, porém com título de anticorpos de 0,1 unidades de Bethesda. Solicitado, então, painel genético para avaliação de mutações associadas à forma congênita, que foi negativo. Depois de 12 dias de plasmáfereze, apresentou contagem plaquetária e parâmetros de hemólise normais, recrudescendo após infecção por *S.aureus*. Iniciada antibioticoterapia e retomadas sessões de plasmáfereze. Paciente recebeu alta hospitalar em remissão hematológica para seguimento ambulatorial. **Discussão:** Na presença de trombocitopenia e anemia hemolítica microangiopática, a deficiência grave de ADAMTS13, definida

por um nível de atividade < 10%, é suficiente para confirmar o diagnóstico de PTT. Na maioria dos casos, o mecanismo para a deficiência enzimática é adquirido por meio de autoanticorpos contra a ADAMTS13. Esses podem ser classificados como inibitórios ou não inibitórios, de acordo com sua capacidade de inibir a atividade da enzima *in vitro*. Os primeiros são detectados por meio de testes funcionais, que se assemelham ao teste da mistura do tipo Bethesda. Títulos de pelo menos 0,4 a 0,5 são considerados positivos, o que acontece em 67% a 97,8% dos pacientes com PTTi. Já os segundos, ligam-se à enzima e aumentam sua depuração plasmática. Embora não sejam mensuráveis por meio de testes funcionais, podem ser medidos por ELISA ou Western Blot. Nos casos de um teste inibitório negativo, a deficiência grave e persistente de ADAMTS13 justifica o sequenciamento genético, visando avaliar a forma congênita da doença. Se ambos negativos, o mecanismo mais raro de anticorpos não inibitórios se torna o mais provável. **Conclusão:** Haja vista poucas descrições em literatura, o relato do caso de PTTi por anticorpos não inibitórios ressalta a importância do diagnóstico diferencial com a PTT congênita. Não há no Brasil teste disponível para detecção de anticorpos não inibitórios e, por esse motivo, é recomendável a realização do teste genético para diferenciar as duas entidades.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.068>

COGNIÇÃO EM ADULTOS COM DOENÇA FALCIFORME E ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL

MJFR Reis, SR Pires, MS Figueiredo

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São
Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Avaliar processos cognitivos em adultos com Doença Falciforme (DF) e possível relação com o número de episódios de Acidente Vascular Cerebral (AVC). **Métodos:** Avaliados 19 pacientes com DF: 17 com anemia falciforme, 1 com doença SC e 1 com S- β Talassemia. Todos em acompanhamento ambulatorial regular, sendo a amostra por conveniência. Pacientes foram divididos em 2 grupos: G1 – 1 AVC pregresso (n = 10) e G2 – 2 ou mais episódios de AVC (n = 9). O número de eventos de AVC foi obtido em pesquisa no prontuário eletrônico. Foi aplicado questionário de avaliação da cognição com 4 questões: Q1- dizer qual o horário apresentado em relógio digital (linguagem/leitura), Q2- identificar o nome de 3 imagens de animais (linguagem/nomeação), Q3- copiar o desenho de um cubo (habilidade visuoespacial) e Q4- elencar o máximo de alimentos em um minuto (velocidade do processamento). Neste último item, a quantidade de alimentos referidos foi padronizada em 2 categorias: ≤ 13 e > 13 alimentos. Utilizou-se o teste exato de Fisher. **Resultados:** Média de idade: G1 = 25,5 (DP = 7,2) e G2 = 29,9 (DP = 8,3), p = 0,89. Distribuição segundo sexo (M:F): G1 = 6:4 e G2 = 5:4, respectivamente, p = 1,0. Apesar do G2 apresentar pior performance em comparação ao G1 nas 4 questões aplicadas, não houve diferença estatística nas Q1 e Q3 (p: 0,34 e 0,14, respectivamente), sendo observada