

do procedimento os cuidados de enfermagem são voltados a acompanhar e monitorar o estado do paciente de modo a poder reconhecer e intervir imediatamente e de maneira eficaz caso uma reação transfusional ocorra, sempre atentando para o estado físico inicial do paciente. Ao finalizar o procedimento de transfusão sanguínea, o paciente deve ser reavaliado pelo enfermeiro por meio da aferição de sinais vitais e uma monitorização pós-transfusão, e correta realização de notificação de reações transfusionais e manejo de material. **Conclusão:** O processo de transfusão sanguínea é de competência da enfermagem, compreendendo cuidados minuciosos e de atenção clínica do enfermeiro, e deve ser amplamente divulgado e discutido para garantir a atualização em conhecimentos entre os profissionais que atuam em hemoterapia, para que possam realizar as práticas com segurança e evitar a ocorrência de eventos adversos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.856>

855

DISCUSSÃO DE CASO: LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA, MIELOMA MÚLTIPLO OU LINFOMA?

M.E.F. Vassellai^{a,b}, M.R. Garbim^{a,b}, J.F. Silva^{a,b}, F.M. Alves^{a,b}, S.T. Oliveira^{a,b}, G.E.B. Oliveira^{a,b}, D. Rech^{b,c}, P.C.N. Fortes^d, C. Panis^{a,b}

^a Laboratório de Biologia de Tumores, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Francisco Beltrão, PR, Brasil

^b Liga Acadêmica de Oncologia Clínica e Cirúrgica e de Hematologia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Francisco Beltrão, PR, Brasil

^c Hospital do Câncer, CEONC, Francisco Beltrão, PR, Brasil

^d Hospital Regional do Sudoeste Walter Alberto Pecoits, Francisco Beltrão, PR, Brasil

Introdução: Devido ao amplo espectro de doenças hematológicas, e à falta de médicos hematologistas e exames especializados em várias instituições que prestam atendimento ao SUS, a definição de diagnóstico de alguns pacientes pode ser dificultosa. **Objetivo:** Trata-se de discussão de um caso clínico de paciente com diagnóstico indefinido entre leucemia linfocítica crônica (LLC), mieloma múltiplo (MM) e linfoma. **Materiais e métodos:** As informações foram obtidas em revisão de prontuário e registro fotográfico dos exames realizados no período de internação. **Relato de caso:** Paciente, sexo feminino, 45 anos, internada em junho de 2019, na Unidade de Terapia Intensiva devido a acidente vascular cerebral (AVC) sem identificação da modalidade, tromboembolismo pulmonar (TEP) e histórico de suspeita de neoplasia hematológica em investigação inicial três dias antes da internação. Os sintomas se iniciaram em dezembro de 2018 e a paciente evoluiu com quadro infeccioso e insuficiência renal crônica em estado afebril. Os exames de celularidade e imunofenotipagem da medula óssea (MO) quando comparados com os valores de referência (VR) apresentaram precursores mieloides reduzidos (0,43% VR 0,75 a

1,9%), pequeno aumento da linhagem neutrofílica (57,06% VR 47%) e padrão anormal de distribuição dos marcadores CD11 vs CD13 vs CD16, CD10 negativo (anormal) e CD15 heterogêneo (anormal). Na linhagem monocítica foi observado um discreto aumento (3,3% VR 2%) e na linhagem linfóide notou-se diminuição (2,41% VR 16%) suspeitando-se de linfopenia. Também se observou diminuição na linhagem eritroide (25% VR 30-35%) e padrão anormal de distribuição antigênica dos marcadores CD36 vs CD71 vs CD105. A MO apresentava eosinofilia (11,2% VR 0,3-4%). O hemograma evidenciou anemia por doença crônica, leucocitose (16.800/mm³), plaquetopenia (12.000/mm³) e anisocitose. Os demais hemogramas têm o mesmo padrão descrito. **Discussão:** A apresentação de anemia por doença crônica e plaquetopenia associadas à contagem de leucócitos e neutrófilos aumentados, sem formas imaturas no sangue periférico, sugerem um quadro infeccioso. A literatura destaca que eventos trombóticos venosos e arteriais podem acometer até 35% dos pacientes com MM, podendo, portanto, justificar o quadro inicial de AVC e TEP. A insuficiência renal apresentada também é uma complicação frequente em pacientes com MM, mas a linfopenia na MO não seria compatível com um quadro típico de MM. Os antígenos CD10, CD15 e CD13 anormais são encontrados em 6%, 7% e 31%, respectivamente, dos casos de MM, mostrando que essa poderia ser uma manifestação atípica da doença. A taxa reduzida de precursores mieloides, linhagem linfóide e aumento da linhagem monocítica indicam acometimento da MO. Por mais que as manifestações clínicas possam ser derivadas de uma outra doença maligna, em seu quadro típico, como linfoma e a LLC, a ausência de linfócitos atípicos no hemograma associada a linfopenia não permite chegar a uma conclusão definitiva. A infiltração observada no tecido ósseo sugere MM ou linfoma infiltrado, apesar da linfopenia incompatível. **Conclusão:** Devido a variada apresentação clínica e a ausência de algumas informações laboratoriais e de imagem a paciente evoluiu a óbito sem um diagnóstico conclusivo. Isso reforça a necessidade de serviços de hematologia para auxílio no fechamento de diagnóstico de alguns pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.857>

856

ESTABELECIMENTO DE PROTOCOLOS PARA DIFERENCIAÇÃO ERITROIDE UTILIZANDO CÉLULAS-TRONCO PLURIPOTENTES INDUZIDAS (IPSC) DERIVADAS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME (AF)

G.L.S. Martins^{a,b}, B.D. Paredes^{b,c}, B.S.F. Souza^{a,b,c}, C.K.V. Nonaka^b, L.S.A. França^{b,c,d}

^a Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

^b Centro de Biotecnologia e Terapia celular, Hospital São Rafael, Salvador, BA, Brasil

^c Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino (IDOR), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^d Programa de Pós-Graduação em Imunologia (PPGI), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

Objetivo: Estabelecer um protocolo para obtenção de células eritroides a partir de iPSC derivadas de indivíduos com AF, de modo a obter um modelo experimental *in vitro* para desenvolvimento de novas terapias. **Material e métodos:** Linhagens de iPSC foram previamente geradas e obtidas de doador saudável (CBTCi003) e paciente com AF (CBTCi006). A determinação do haplótipo do gene βS foi realizada pela análise de polimorfismo do fragmento de restrição utilizando a reação em cadeia da polimerase. As duas linhagens foram submetidas ao estabelecimento de um protocolo de diferenciação eritroide em etapas: i. obtenção de células progenitoras hematopoiéticas (HPCs), pela formação de corpos embrioides (EBs); ii. expansão de eritroblastos; e iii. maturação final. Etapas confirmadas por citometro de fluxo para os marcadores CD34, CD43, CD45, CD71, CD36 e CD235a. Foi realizado ensaio de célula formadora de colônia (CFC) utilizando meio específico Methocult. A morfologia das células nas etapas ii e iii foi identificada com coloração giemsa após cito centrifugação. Foi feita uma avaliação da produção de hemoglobina fetal (HbF) e hemoglobina β (HbB), pela reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa quantitativa (RT-qPCR), utilizando sonda para o gene HBG2 e HBB, respectivamente. **Resultados:** O haplótipo da linhagem CBTCi006 foi identificado Benin/Benin. HPCs presentes no sobrenadante, obtidas pela agregação com placa de fundo em U não aderente, apresentaram marcação de 40% e 56% de células CD34+ para as linhagens CBTCi003 e CBTCi006, respectivamente. Já a marcação CD34+/CD45+ foi de 15% e 27% enquanto a marcação CD43+/CD45+ foi de 66% e 86%. Pelo ensaio de CFC foram identificadas colônias de diferentes tipos: BFU-E, CFU-E, CFU-GM e CFU-GEMM. Na etapa ii, o rendimento foi de 40x em relação ao número inicial de iPSC plaqueadas para formação de EBs. As células apresentaram marcação para CD36+/CD71+ de 35%. Além da caracterização por imunofenotipagem, foi observada formação de um *pellet* celular vermelho. A análise de HBG2 (HbF) e HBB (HbB) por RT-qPCR demonstrou a produção de HBG2 aumentada nas células derivadas de iPSC quando comparadas a uma amostra obtida de sangue periférico (SP), no entanto, o contrário foi observado para o gene HBB. Foi possível ainda observar marcação de 52% de células CD71+/CD235a+, e a presença de proeritroblastos e eritroblastos ortocromáticos. **Discussão:** A presença das HPCs no sobrenadante indica que essas células emergem dos EBs para a o meio em suspensão. As HPCs apresentam marcação positiva para CD34/CD45 importante para identificação desse tipo celular, assim como o CD43, também expresso, importante para o início da diferenciação eritroide *in vitro*. A capacidade de proliferação e diferenciação das HPCs foi comprovada pela obtenção de diferentes tipos de colônias. Eritroblastos da etapa ii expressavam CD36+/CD71+. Ao final, a visualização do *pellet* vermelho indicou produção de hemoglobina, confirmando a diferenciação em células eritroides também pela expressão de CD71+/CD235a+. Embora sejam observados os marcadores de células maduras, a análise de RT-qPCR identificou expressão com perfil fetal, já que níveis de HBG2 estavam elevados. **Conclusão:** Foi possível estabelecer um protocolo de geração de células eritroides a partir de iPSC de indivíduos com AF que permite a sua utilização para testes farmacológicos e estudos de mecanismos da doença.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.858>

857

EXPECTATIVA DA ENGENHARIA GENÉTICA APLICADA AO TRATAMENTO DA ANEMIA FALCIFORME

L.F.M. Silva^a, M.J. Malagutti-Ferreira^b, R.A.C. Bittencourt^a, J.A.R. Fracasso^a

^a Instituto Ciências da Saúde, Universidade Paulista (UNIP), Assis, SP, Brasil

^b Departamento de Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Assis, SP, Brasil

A anemia falciforme (AF) é uma anomalia genética causada por distúrbios na herança do gene da hemoglobina mutante de origem materna e paterna. Aproximadamente 5% da população mundial são portadoras de genes responsáveis por hemoglobinopatias. Sabe-se que no Brasil, a prevalência da AF é de 4% e os tratamentos disponíveis são; medicamentos, transfusões sanguíneas (TF) e transplante de medula óssea (TMO). Atualmente, busca-se novos tratamentos com menores complicações, em função destes aspectos, a Terapia Genética (TG) visa substituir um gene anormal por um gene normal, por meio de uma técnica da biologia molecular, CRISPR CAS9, um sistema que introduz mudanças em determinados locais do genoma, uma vez que pode corrigir ou silenciar uma mutação genética grave, e apresenta-se como um tratamento alternativo e promissor para o tratamento da AF. A metodologia utilizada para a desenvolver esse resumo, foi baseada em análises de dados de artigos científicos, contando com a amostragem de 32 publicações, desde 2000 á 2020, assim como, dados de domínio do Ministério da Saúde do Brasil e da Organização Mundial da Saúde (OMS). Embora não tenham ensaios clínicos elegíveis, há ensaios pré-clínicos com cultura celular e camundongos que demonstram resultados positivos, porém, muitas questões éticas entram no debate sobre o seu uso em humanos até o presente momento. Deste modo, a TG aplicada a AF, objetiva-se em diminuir a sintomatologia dos portadores, outrossim, uma menor incidência de úlceras crônicas, predisposição a necrose e infecções, concedendo qualidade de vida aos portadores. Destarte, vários obstáculos iniciais à TG da AF tenham sido superados, é prudente reconhecer que ainda existe um longo caminho a percorrer referente á segurança e a eficácia nos padrões éticos, que serão determinados e investigados por meio de ensaios clínicos cuidadosos com pacientes á longo prazo. Em síntese, os métodos de engenharia genética estão em ascensão, dentre os próximos 20 anos, espera-se promover a ampliação de novas técnicas sofisticadas para realização de TG de “segunda geração”, propiciando assim, alta especificidade gênica. Indubitavelmente, tendo em vista que os ensaios pré-clínicos atuais, mostraram-se eficazes a publicação, há uma grande expectativa aos ensaios clínicos em humanos nesta década. Por fim, a utilização da técnica de biologia molecular, CRISPR CAS9, como um possível tratamento alternativo, sendo os ensaios clínicos humanos acompanhados e comprovada a eficácia, poderá ser comercializado aos portadores AF em um futuro próximo, assim, nesse contexto a

