
HEMATOLOGIA

DOENÇAS DA SÉRIE VERMELHA: ANEMIA APLÁSTICA, HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA, NOTURNA, ANEMIAS CONGÊNITAS, ANEMIA DE FANCONI

0086

Investigação de SNPs do gene CCL11 (Eotaxina-1) associada a complicações pulmonares em crianças portadoras de anemia falciforme

Furigo-Cardoso LH^{1,2}, Albuquerque DM², Santos A², Santos MN^{3,4}, Bezerra MA^{4,5}, Araújo AS⁵, Araújo NB⁵, Costa FF^{1,2}, Franco-Penteado CF^{1,2}

¹ Departamento de Clínica Médica, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

² Laboratório de Hemoglobina e Genoma, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

³ Departamento de Patologia Clínica, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

⁴ Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Caruaru, PE

⁵ Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

Anemia Falciforme (AF) é a doença hereditária mais prevalente no Brasil e no mundo, decorrente de uma mutação de ponto no códon 6 do gene da globina beta (GAG>GTG) e tem por consequência a troca do resíduo ácido glutâmico pela valina, levando a produção de uma hemoglobina anômala, a hemoglobina S. Uma das características marcantes da AF é a variabilidade clínica observada nesses pacientes, o que contribui para a complexidade no entendimento da sua fisiopatologia. A ocorrência de broncoconstrição resultando no descompasso da perfusão e ventilação pulmonar, propiciam um microambiente de hipóxia e acidose, que induz uma mudança na dissociação do oxigênio e promove o aumento da falcização, que pode levar à síndrome torácica aguda. As complicações pulmonares são multifatoriais e influenciadas por polimorfismos genéticos o que culmina em alto índice de morbidade nesses pacientes. As eotaxinas são quimiocinas da família CC que estimulam a migração de eosinófilos dos vasos sanguíneos para os pulmões e agem sobre seu receptor (CCR3) revelando um papel crucial na resposta inflamatória das doenças do trato respiratório. Inicialmente descritas como citocinas quimiotáticas, atualmente sabe-se que essas moléculas exercem múltiplos papéis no processo inflamatório, incluindo a regulação do tráfego e a imunomodulação da ativação dos leucócitos, fibrose, angiogênese, hematopoese e o estabelecimento e manutenção da hiperresponsividade. Polimorfismos do gene CCL11 (eotaxina1) têm sido frequentemente associados às complicações respiratórias. Este estudo tem como objetivo investigar polimorfismos gênicos da eotaxina1 e correlacioná-los às manifestações clínicas (asma, síndrome torácica aguda e infecção pulmonar) em um grupo de 114 pacientes pediátricos com AF diagnosticados e acompanhados no HEMOPE-Pernambuco. A análise molecular para identificação dos SNPs rs16969415 (-426C>T), rs17809012 (-384A>G) e rs1129844 (67G>A) foi realizada por PCR-RFLP. Os dados foram submetidos ao programa Estatístico Livre R versão 2.15.1 e os Resultados foram avaliados pelo teste de Fischer ($p \leq 0,05$). Aproximadamente 89% dos pacientes investigados apresentaram o genótipo selvagem (CC) para o SNP rs16969415 (101/114), enquanto que 11% desses pacientes foram heterozigotos (13/114). O outro polimorfismo estudado localizado na região promotora do gene foi o rs17809012, que apresentou 40% de genótipo homozigoto selvagem (AA) (40/100), 43% heterozigotos (43/100) e 17% de homozigotos recessivos (17/100). Além desses, também foi avaliado o SNP rs1129844 (67G>A), localizado no códon 23 e responsável pela substituição de uma alanina por treonina nessa posição. Dentre os 87 pacientes

analisados para esse polimorfismo, 86 foram homozigotos para o genótipo G (99%) e apenas 1 paciente apresentou o genótipo GA (1%). A análise estatística não revelou associação dos SNPs avaliados com as complicações pulmonares apresentadas pelas crianças portadoras de AF. Trata-se de um estudo preliminar. A ampliação da casuística, a avaliação de outros polimorfismos relacionados às enfermidades respiratórias, além do estabelecimento de haplótipos que caracterizem genotipicamente essa população e que possam correlacioná-la ao quadro clínico apresentado podem contribuir para o esclarecimento da fisiopatologia da AF e fornecer suporte terapêutico através desses marcadores genéticos.

0087

Elevated lactate dehydrogenase is associated with occurrence of thromboembolism and mortality within 12 months of assessment in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Jang JH¹, Lee JW², Kim JS³, Yoon S⁴, Lee J⁵, Kim Y⁶, Jo D⁷, Sohn SK⁸, Chung J⁹, Pavani R¹⁰

¹ Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Republic of Korea

² The Catholic University of Korea, Seoul, Republic of Korea

³ Yonsei University College of Medicine, Seoul, Republic of Korea

⁴ National University Hospital, Seoul, Republic of Korea

⁵ University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Republic of Korea

⁶ Chonnam National University Medical School, Gwangju, Republic of Korea

⁷ Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea

⁸ Kyungpook National University School of Medicine, Daegu, Republic of Korea

⁹ National University, Pusan, Republic of Korea

¹⁰ Alexion Pharmaceuticals, Cheshire, USA

Background: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is an acquired hematopoietic stem cell disorder caused by a somatic mutation in the *PIG-A* gene that leads to chronic, uncontrolled terminal complement activation. The subsequent red blood cell (RBC) hemolysis with platelet and leukocyte activation causes life-threatening thromboembolism (TE), chronic renal insufficiency, pain, severe fatigue, poor quality of life, and early mortality. Lactate dehydrogenase (LDH) serum level ≥ 1.5 times the upper limit of normal (LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$) is a marker of uncontrolled complement activation that has been used in multinational PNH clinical trials and was recently confirmed by our group as a sensitive marker for measuring risk of mortality and TE in patients with PNH.

Aims: To evaluate the association of LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ with risk of TE and mortality, and to understand the impact of granulocyte clone size on the occurrence of TE and mortality. **Methods:** A retrospective analysis of a 301-patient national PNH data registry in South Korea was performed. Patients were aged 8–88 years (median 37 years), median PNH duration was 6.6 years (1 month–41 years), median PNH granulocyte clone size was 48.8%, and median LDH was $>4.0 \times \text{ULN}$. 76.3% of patients had an LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ and 18% ($n=54$) had a history of TE.

Results: A significant association was shown between LDH and the occurrence of TE within 12 months of LDH assessment: the odds of experiencing a TE were 4.4× greater if LDH was $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ compared with $<1.5 \times \text{ULN}$ ($P=0.020$). Importantly, 82% (18/22) of the patients with LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ who had a TE at 12 months experienced this TE within the first 6 months. Furthermore, 5% (7/150) of patients with LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ died within 12 months following LDH assessment, reflecting a significantly higher mortality compared with 0% (0/51) of the $<1.5 \times \text{ULN}$ cohort ($P=0.004$). In contrast, there was no correlation between clone size and risk of TE or early mortality. In a multivariate analysis across all interquartile clone size categories, there were no significant differ-

ences in the risk of TE and mortality (Chi square $P=0.292$ and $P=0.247$, respectively). **Conclusion:** Elevated LDH is a significant predictor of increased occurrence of TE and mortality within 12 months of LDH assessment. It has been suggested previously that large clone sizes may predict risk of TEs; however, our findings from this large cohort of patients show that neither TE nor death within 12 months was related to clone size. The 15% (22/150) incidence of TE within 12 months in patients with LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$, with most TEs occurring within the first 6 months of an LDH reading, highlights the medical need and urgency for early therapeutic intervention in PNH patients with an elevated LDH.

0088

Clinical symptoms of hemolysis are predictive of disease burden and mortality in Asian patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Lee JW¹, Jang JH², Kim JS³, Yoon S⁴, Lee J⁵, Kim Y⁶, Jo D⁷, Chung J⁸, Sohn SK⁹, Pavani R¹⁰

¹ The Catholic University of Korea, Seoul, South Korea

² Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, South Korea

³ Yonsei University College of Medicine, Seoul, South Korea

⁴ Seoul National University, Seoul, South Korea

⁵ University of Ulsan College of Medicine, Seoul, South Korea

⁶ Chonnam National University Hwasun Hospital, Hwasun, South Korea

⁷ Chungnam National University Hospital, Daejeon, South Korea

⁸ Pusan National University Hospital, Pusan, South Korea

⁹ Kyungpook National University Hospital, Daegu, South Korea

¹⁰ Alexion Pharmaceuticals, Cheshire, USA

Background: Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) is a progressive and life-threatening disease characterized by chronic, complement-mediated hemolysis. The progressive morbidities and mortality associated with PNH, including life-threatening thromboembolism (TE), renal dysfunction, pulmonary hypertension, and abdominal pain, lead to diminished quality of life. Failure to recognize the clinical consequences of chronic hemolysis results in delayed diagnosis and, more importantly, increased disease burden. The frequency and type of clinical symptoms and the relation of these symptoms to TE and early mortality has not been previously examined in Asian patients with PNH. **Aim and Methods:** To describe the clinical manifestations and disease burden of Asian patients with PNH, we retrospectively analyzed the medical records of 301 patients in the South Korean PNH data registry. **Results:** At diagnosis, median PNH granulocyte clone size was 49% and lactate dehydrogenase (LDH) was 4.1-fold above the upper limit of normal. TE was detected in 54 patients (17.9%), 19 of whom had experienced multiple TE events. A univariate analysis showed that TE was a strong predictor of mortality (*odds ratio* [OR] 8.42; 95% confidence interval [CI] 4.15, 17.08; $P < 0.0001$), yet only 45 patients (15.0%) were treated with antithrombotic medications. Impaired renal function was reported in 51 patients (16.9%) and was shown to be a significant risk factor for TE (OR 3.78; 95% CI 1.93, 7.42; $P < 0.001$) and mortality (OR 3.41; 95% CI 1.66, 7.02; $P = 0.001$). Pain was reported by 169 patients (56.1%) and required medical intervention in 66 of these 169 patients (39.1%). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs were administered to 37 of the 66 patients (56.1%) and opioids to 22 of the 66 patients (33.3%). Abdominal pain was reported in 141 of the 169 patients (83.4%) who reported pain or 46.8% of the entire population; treatment for abdominal pain accounted for 74% of the total opioid use. A total of 37 of 54 patients (68.5%) with TE had evidence of abdominal pain, which was a significant risk factor for both TE (OR 2.94; 95% CI 1.57, 5.51; $P < 0.001$) and mortality (OR 2.10; 95% CI 1.087, 4.08; $P = 0.026$). Clinical symptoms of pulmonary hypertension were observed in 130 patients (43.2%). Furthermore, 30 of the 111 patients with dyspnea

(27.0%) and 13 of the 38 patients (34.2%) with chest pain had a TE, with both of these events being significant risk factors for TE (OR 2.52; 95% CI 1.38, 4.58; $P = 0.002$ and OR 2.82; 95% CI 1.33, 5.95; $P = 0.009$, respectively). **Conclusions:** These data demonstrate that Asian PNH patients frequently suffer disabling symptoms, including impaired renal function and pulmonary hypertension, during the course of their disease. Moreover, prominent symptoms such as abdominal pain, dyspnea, and chest pain are risk factors for TE, which is a significant risk factor for mortality in Asian patients. Despite medical intervention with supportive care, including the use of corticosteroids in 232 of the total population studied (77.1%), patients continued to demonstrate disabling symptoms, progressive complications, and early mortality.

0089

Lactate dehydrogenase greater than or equal 1.5x above normal is a sensitive and specific marker to identify patients at risk of clinical complications and mortality associated with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Lee JW¹, Jang JH², Kim JS³, Yoon S⁴, Lee J⁵, Kim Y⁶, Jo D⁷, Chung J⁸, Sohn SK⁹, Pavani R¹⁰

¹ The Catholic University of Korea, Seoul, South Korea

² Department of Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, South Korea

³ Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, South Korea

⁴ Seoul National University, College of Medicine, Seoul, South Korea

⁵ Division of Hematology, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, South Korea

⁶ Department of Hematology/Oncology, Chonnam National University Hwasun Hospital, Hwasun, South Korea

⁷ Department of Hematology/Oncology, Chungnam National University Hospital, Daejeon, South Korea

⁸ Hematology/Oncology Section, Department of Internal Medicine, Pusan National University Hospital, Pusan, South Korea

⁹ Department of Hematology/Oncology, Kyungpook National University Hospital, Daegu, South Korea

¹⁰ Alexion Pharmaceuticals, Cheshire, USA

Background: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a progressive disease caused by a somatic mutation in the *PIG-A* gene that leads to deficiency of the complement protection proteins CD55 and CD59. Chronic, uncontrolled terminal complement activation leads to hemolysis, which is the underlying cause of the thromboembolism (TE), end organ damage, and early mortality associated with the disease. Lactate dehydrogenase (LDH) is a marker of red blood cell lysis, and serum levels of this enzyme in excess of 1.5 times the upper limit of normal (LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$) is considered to be suggestive of uncontrolled complement activation. TE is the leading cause of death in PNH and accounts for 40%–67% of deaths in patients with PNH. **Aims:** To evaluate whether LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ at diagnosis is predictive of TE and mortality. **Methods:** This was a retrospective analysis of 224 patients with reported LDH levels at diagnosis from the national PNH registry (N=301) in South Korea. **Results:** PNH patients with LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ at diagnosis had a 4.8-fold greater mortality rate compared with an age- and gender-matched general population (AGMGP; $P < 0.001$), and in a multivariate analysis, LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ proved to be an independent predictor of mortality regardless of age, gender, or the presence of bone marrow disorder (*odds ratio* [OR]=10.57; 95% confidence interval [CI] 1.36, 81.93; $P = 0.024$). Patients with LDH $< 1.5 \times \text{ULN}$ had a similar mortality rate as the AGMGP ($P = 0.824$). A threshold LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ detected 93% of patient deaths and 96% of patients with TE. Analyses were also performed using LDH thresholds of $\geq 3 \times \text{ULN}$ and $\geq 5 \times \text{ULN}$ to investigate if they were more specific

markers for risk of death or TE. Neither LDH $\geq 3.0 \times \text{ULN}$ (OR 1.8; 95% CI 0.78, 4.09; $P = 0.162$) nor LDH $\geq 5.0 \times \text{ULN}$ (OR 2.0; 95% CI 0.91, 4.32; $P = 0.082$) were significant predictors of early mortality. Furthermore, LDH $\geq 3.0 \times \text{ULN}$ and $\geq 5.0 \times \text{ULN}$ only detected 67% and 47% of patients who experienced a TE, respectively. **Conclusions:** These data demonstrate that chronic, uncontrolled complement activation as measured by LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ at diagnosis of PNH is a strong and independent predictor of clinical complications and mortality in PNH patients. LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ clearly identifies PNH patients with a high risk of life-threatening complications and premature mortality (4.8-fold) from the remaining population of PNH patients with normal survival. Thus, physicians should consider LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ as a strong indicator of risk for clinical complications and mortality that warrants early intervention.

0090

Avaliação das características clínicas e laboratoriais de pacientes com clone de células HPN (hemoglobinúria paroxística noturna) detectados por citometria de fluxo

Azambuja AP, Malvezzi M, Nascimento B, Ogama M, Oliveira MM, Medeiros LA, Bittencourt MA, Funke VA, Pasquini R

Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

Introdução: A Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) é uma doença clonal e adquirida da hematopoese, caracterizada clinicamente por hemólise intravascular crônica, falência medular e hipercoagulabilidade levando a trombozes. A facilidade na detecção de clone HPN através do uso de técnicas sensíveis aumentou o diagnóstico, mas a heterogeneidade da doença torna imprescindível a correlação clínica. **Objetivos:** analisar as características clínico-biológicas de uma população de pacientes com clone HPN. **Métodos:** análise retrospectiva de pacientes selecionados através de busca nos exames de imunofenotipagem por citometria de fluxo (CF) realizados entre dez/1999 e dez/2011. Definição de Clone HPN+: CF com defeito de expressão $>0,1\%$ em pelo menos dois marcadores (CD55, CD59, CD16, CD24, CD66b, CD14) em duas linhagens hematopoéticas distintas. **Resultados:** 103 pacientes clone HPN+; 52M / 51F, idade mediana 24,1 anos. Sintomas iniciais: 95,1% astenia; 46,6% infecção; 66% sangramentos, sendo 47,1% petéquias e equimoses e 47,1% hemoglobinúria; 38,8% dor abdominal; 13,6% icterícia; 97,1% anemia; 84,5% leucopenia; 92,2% trombocitopenia. Os pacientes foram divididos conforme as características do hemograma inicial: 5 (4,85%) HPN clássica (anemia apenas, sem outra citopenia associada); 60 (58,2%) HPN+AAS (anemia e neutropenia e/ou plaquetopenia (neutrófilos $<1000/\text{mm}^3$ e plaquetas $<80.000/\text{mm}^3$); 38 (36,9%) grupo intermediário (anemia, neutropenia e/ou plaquetopenia mais leves (neutrófilos 1000 - 1500/ mm^3 ; plaquetas 80.000 - 120.000/ mm^3). A celularidade mediana MO foi 5% em HPN+AAS, 12,5% nos intermediários e 70% nas clássicas ($p=0,094$), sendo 89,3% hipoplasia medular ao diagnóstico (celularidade $<30\%$) e 41,7% hiperplasia eritróide. 54 (52,4%) pacientes apresentaram hemólise durante o acompanhamento, sendo 22 (36,7%) HPN+AAS, 22 (57,9%) intermediário e 5 (100%) HPN clássica ($p=0,06$), sendo que 19 (40%) ocorreram no primeiro ano do diagnóstico e 28 (60%) após um ano do diagnóstico ($p=0,011$). O tamanho do clone em granulócitos e eritrócitos foi significativamente menor no grupo que nunca hemolisou (14,8% e 4,0%, $n=51$), que nos grupos com hemólise no primeiro ano (72,3% e 43,9%, $n=23$) e depois do primeiro ano (56,4% e 26,1%, $n=29$), $p<0,001\%$. 17 pacientes evoluíram com trombose, sendo 9 (15%) HPN+AAS, 6 (15,8%) intermediário e 2 (40%) HPN clássica ($p=1,00$). **Tratamento:** 90 (87,4%) corticóide, 77 (74,8%) CSA, 27 (28,4%) TCTH, 11 (11,6%) Thymoglobulina, 10 (9,7%) Hemogenin, 5 (4,9%) Eculizumab. 14 óbitos,

sendo 11 HPN+AAS e 3 grupo intermediário. Causas: sepsis 6 (42,9%); TEP em 4; trombose mesentérica 2, DECH grave pós TCTH 1 e morte súbita 1. Sobrevida global 81,7% em 10 anos no grupo total, e 87,89% x 76,52% nos grupos HPN clássica + intermediário versus HPN+AAS ($p=0,09$). **Discussão:** Os Resultados da citometria de fluxo em pacientes com clone HPN devem ser correlacionados com as informações clínicas e laboratoriais para o diagnóstico, classificação e tratamento. Não houve diferença na hemólise e trombose utilizando apenas as variáveis do hemograma, mas sim no tamanho do clone e nos níveis de LDH quando há hemólise. **Conclusão:** Os critérios apenas do hemograma inicial não são suficientes para a correta classificação, sendo necessário associar parâmetros claros de hemólise para diferenciar os grupos.

0091

Benefícios da orientação genética para portadores do traço em doadores do Centro de Hematologia e Hemoterapia Do Piauí - HEMOPI

Souza AS¹, Araújo MD¹, Alves BE¹, Santana MP¹, Gonalves RH¹, Rocha AE¹, Marcos GC², Brito IB²

¹ Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí – HEMOPI, Teresina, PI

² Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina, PI

Introdução: A Doença Falciforme constitui uma das mais comuns doenças genéticas e hereditárias no Brasil. Ocorre em indivíduos portadores do gene *beta globina* mutante, com produção de Hemoglobina (Hb) alterada S, associada ou não com outras Hb mutantes, como C, D e E. O indivíduo caracterizado por possuir genótipo em heterozigose, com um gene para a hemoglobina A e outro mutante – (HbAS, HbAC, HbAD, etc.), é denominado portador do Traço Falciforme (TF). O TF é o perfil genotípico mais comum (HbAS), e estima-se que haja mais de dois milhões de portadores dessa característica. A orientação genética, de caráter assistencial e preventivo, deve ser assegurada ao portador do traço e seus familiares. **Métodos:** Utilizou-se do banco de dados de doadores do HEMOPI, o HEMOVIDA, para verificação dos doadores portadores de traço, diagnosticados através do exame de eletroforese de Hb durante o período de março a abril de 2011, num total de 534 pacientes. Foram enviadas cartas a todos os doadores, em março/2012. No trabalho constam os doadores que compareceram durante o período de março a maio de 2012, total de 102. Utilizou-se como base para orientação o Manual de Informação e Orientação Genética em Herança Falciforme do Ministério da Saúde/2011. Nessa conjuntura, utilizou-se das seguintes abordagens: Herança genética, Hemoglobina e suas alterações, Transmissão e Probabilidades e Explicações sobre o TF. Ofereceu-se pesquisa em familiares. **Resultados e Discussão:** Dos 102 doadores orientados, 61 foram do sexo masculino e 41 do sexo feminino. A faixa etária predominante foi a de 18 a 27 anos, com 53 doadores (52%), o que se destaca pelo fato de serem doadores em idade de, potencialmente, constituírem família. Releva-se que, dentre as 41 mulheres orientadas, 38 (92,7%) encontravam-se em idade fértil – até 50 anos -, o que constitui o principal público-alvo da orientação, entretanto não torna ineficaz a orientação para as demais, uma vez que, como supracitado, também se oferece exame para pesquisa do traço em familiares potencialmente férteis. Quanto ao tipo de traço, 86 doadores (84,3%) são portadores de traço falciforme e 16 (15,7%), de traço C, diferenciadas nesse aspecto, entretanto semelhantes quanto à probabilidade de gerar um filho doente. Observou-se que 66 doadores eram solteiros (64,7%), enquanto que 33 eram casados (32,4%), o que notabiliza o público-alvo. 73,5% dos pacientes ($n=75$) afirmaram nunca ter ouvido falar no traço, enquanto 89,2% ($n=91$) afirmaram desconhecer a presença de casos na

família, fato que corrobora a necessidade de políticas de esclarecimento sobre a doença falciforme, dado sua tão elevada prevalência. **Conclusão:** Depreendeu-se que a orientação genética em doadores portadores do traço, além de possibilitar a pesquisa em familiares, constitui uma importante ferramenta no esclarecimento dos doadores quanto ao seu diagnóstico e possibilita a tomada de decisões conscientes a respeito da procriação.

0092

Perfil do estado nutricional dos pacientes com doença falciforme assistidos no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí – HEMOPI

Sousa AS¹, Araújo MD¹, Silva NR¹, Marcos GC², Brito IB²

¹ Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí – HEMOPI, Teresina, PI

² Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina, PI

Introdução: A avaliação do estado nutricional de indivíduos ou de populações pode ser definida como conjunto de ações e procedimentos que tem por objetivo diagnosticar a magnitude, a gravidade e a natureza dos problemas nutricionais. Para isso, torna-se necessário identificar e analisar os seus determinantes, a fim de estabelecer as medidas de intervenção adequadas (Ministério da Saúde). A doença falciforme (DF) é a enfermidade de origem hereditária que apresenta maior incidência no Brasil. Essa condição exige um trabalho multidisciplinar dos profissionais de saúde, além da alta morbimortalidade associada. No âmbito nutricional, ressalta-se que os indivíduos com DF têm maior predisposição para desenvolvimento de desnutrição, uma vez que apresentam taxa metabólica basal 16 a 20% maior que a população considerada saudável. (Manual de Nutrição da Doença Falciforme - Salvador Bahia 2009). **Objetivos:** Analisar o perfil do estado nutricional dos pacientes assistidos no HEMOPI, com o objetivo de promover a melhoria da história natural da doença falciforme, através da alimentação saudável e práticas alimentares resgatando os valores sociais e comportamentais. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal de abordagem quantitativa realizada com pacientes assistidos no HEMOPI, durante o ano de 2011. Após consulta multiprofissional, a coleta de dados foi realizada através dos prontuários dos pacientes, com base nos seguintes parâmetros: faixa etária, sexo, e estado nutricional. O estado nutricional dos pacientes foi analisado utilizando-se a classificação do IMC, segundo a OMS (1995 e 1997) e LIPSCHITZ (1994). **Resultados:** Dos 82 prontuários analisadas, 68 (82.9%) correspondiam à pacientes do sexo feminino, e 14 (17.1%) do sexo masculino. Quanto à faixa etária, 18 (22%) tinham até 25 anos; 18 (22%) entre 26 e 35 anos; 22 (26.8%) entre 36 e 45 anos; 12 (14.6%) entre 46 e 55 anos; 10 (12.2%) entre 56 e 65 anos; e 2 (2.4%) pacientes encontravam-se acima de 65 anos. Quanto ao estado nutricional, 36 (43.9%) pacientes estavam com IMC adequado; 18 (22%) com baixo peso; 15 (18.3%) com sobrepeso; e 13 (15.8%) com obesidade. **Conclusão:** Depreendeu-se, a partir da análise dos dados, que os pacientes assistidos pelo profissional de nutrição do HEMOPI foi a maioria do sexo feminino, com faixa etária de 36 e 45 anos, com peso adequado. Observou-se, ainda, que o acompanhamento nutricional dos pacientes com DF deve ser visto como prioritário, para que estes possam ter uma alimentação saudável baseada em práticas alimentares resgatando os valores sociais e comportamentais, bem como estimular a produção e o consumo de alimentos saudáveis regionais, de modo que favoreça o deslocamento do consumo de alimentos pouco saudáveis.

0093

Análise do perfil dos portadores de doença falciforme atendidos no Hospital Infantil Lucídio Portela do Estado do Piauí: Identificando as medidas terapêuticas

Souza AS¹, Araújo MD¹, Marcos GC², Brito IB², Marcos GC², Barbosa AL²

¹ Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí – HEMOPI, Teresina, PI

² Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina, PI

Introdução: O Hospital Infantil Lucídio Portela (HILP) é o centro de referência em Pediatria do estado do Piauí com atendimento em diversas áreas, inclusive doenças hematológicas. Dentre elas, a Doença Falciforme (DF), a doença hereditária mais comum no Brasil, oriunda da produção de hemoglobina S, associada ou não com outros tipos de hemoglobinas alteradas. A mutação genética responsável pela deformidade da hemoglobina está diretamente relacionada aos sintomas da doença: síndrome mão-pé, dores intensas, sequestro esplênico, icterícia, priapismo, dentre outros. A DF não possui cura e o tratamento é paliativo, tendo como principais condutas: administração de ácido fólico, hidroxiuréia (HU), transfusão sanguínea e analgesia, sobretudo durante as crises. **Objetivos:** Analisar o perfil das crianças portadoras de DF atendidas no HILP, tendo como foco de maior relevância as medidas terapêuticas. **Métodos:** Selecionou-se prontuários de pacientes diagnosticados com DF atendidos no HILP. Montando-se um banco de dados entre os anos de 2009 e 2011, e, a partir deste, foram coletados e analisados os dados sob os seguintes parâmetros: sexo, ano de diagnóstico, naturalidade e medida terapêutica. **Resultados:** Dentre os 67 pacientes do estudo, notou-se que 38 (56.7%) eram do sexo masculino, e 29 (43.3%) feminino. Quanto ao ano do diagnóstico, observou-se que 15 (22.4%) foram efetivados em 2009, 34 (50.7%) em 2010 e 18 (26.9%) em 2011. Quanto à naturalidade, no âmbito estadual, 52 (73.1%) eram do Piauí, sendo 18 (26.9%) do município de Teresina; 12 (17.9%) do Maranhão; 2 da Paraíba e 1 do Pará. Observou-se ainda que, dos 67 pacientes, 28 (41,8%) não retornaram para iniciar a medida terapêutica, 36 (53.7%) foi prescrita ácido fólico, sozinho ou associado à HU e 3 (4.5%) sulfato ferroso. **Conclusão:** Depreendeu-se, que o diagnóstico da DF no HILP ocorreu, sobretudo, em crianças do sexo masculino. A maior casuística foi observada no ano de 2010, em pacientes do Piauí, especialmente no município de Teresina. Quanto à terapêutica, a mais utilizada foi o ácido fólico, sozinho ou associado à HU. Observou-se, ainda, que em alguns prontuários foi prescrito sulfato ferroso, medicamento este que pode prejudicar o paciente com DF, porque o ferro extra se acumula no organismo e pode causar danos aos órgãos.

0094

Orientação genética para portadores do traço em doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí – HEMOPI: ferramenta para esclarecimento

Souza AS¹, Araújo MD¹, Alves BE¹, Santana MP¹, Rocha AE¹, Gonalves RH¹, Marcos GC², Brito IB²

¹ Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí – HEMOPI, Teresina, PI

² Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina, PI

Introdução: A Doença Falciforme constitui uma das mais comuns doenças genéticas e hereditárias no Brasil. Ocorre em indivíduos portadores do gene *beta globina* mutante, com produção de Hemoglobina (Hb) alterada S, associada ou não com outras Hb mutantes, como C, D e E. O indivíduo caracterizado por possuir

genótipo em heterozigose, com um gene para a hemoglobina A e outro mutante – (HbAS, HbAC, HbAD, etc.), é denominado portador do Traço Falciforme (TF). O TF é o perfil genotípico mais comum (HbAS), e estima-se que haja mais de dois milhões de portadores dessa característica. A orientação genética, de caráter assistencial e preventivo, deve ser assegurada ao portador do traço e seus familiares. **Objetivos:** Estudar os doadores de sangue com traço sob a ótica da orientação genética. **Métodos:** Utilizou-se do banco de dados de doadores do HEMOPI, o HEMOVIDA, para verificação dos doadores portadores de traço, diagnosticados através do exame de eletroforese de Hb durante o período de março a abril de 2011, num total de 534 pacientes. Foram enviadas cartas a todos os doadores, em março/2012. No trabalho constam os doadores que compareceram durante o período de março a maio de 2012, total de 102. Utilizou-se como base para orientação o Manual de Informação e Orientação Genética em Herança Falciforme do Ministério da Saúde/2011. Nessa conjuntura, utilizou-se das seguintes abordagens: Herança genética, Hemoglobina e suas alterações, Transmissão e Probabilidades e Explicações sobre o TF. Ofereceu-se pesquisa em familiares. **Resultados e Discussão:** Dos 102 doadores orientados, 61 foram do sexo masculino e 41 do sexo feminino. A faixa etária predominante foi a de 18 a 27 anos, com 53 doadores (52%), o que se destaca pelo fato de serem doadores em idade de, potencialmente, constituir família. Releva-se que, dentre as 41 mulheres orientadas, 38 (92.7%) encontravam-se em idade fértil – até 50 anos -, o que constitui o principal público-alvo da orientação, entretanto não torna ineficaz a orientação para as demais, uma vez que, como supracitado, também se oferece exame para pesquisa do traço em familiares potencialmente férteis. Quanto ao tipo de traço, 86 doadores (84.3%) são portadores de traço falciforme e 16 (15.7%), de traço C, diferenciadas nesse aspecto, entretanto semelhantes quanto à probabilidade de gerar um filho doente. Observou-se que 66 doadores eram solteiros (64.7%), enquanto que 33 eram casados (32.4%), o que notabiliza o público-alvo. 73.5% dos pacientes (n=75) afirmaram nunca ter ouvido falar no traço, enquanto 89.2% (n=91) afirmaram desconhecer a presença de casos na família, fato que corrobora a necessidade de políticas de esclarecimento sobre a doença falciforme, dado sua tão elevada prevalência. **Conclusão:** Depreendeu-se que a orientação genética em doadores portadores do traço, além de possibilitar a pesquisa em familiares, constitui uma importante ferramenta no esclarecimento dos doadores quanto ao seu diagnóstico e possibilita a tomada de decisões conscientes a respeito da procriação.

0095

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clonal expansion following stem cell transplantation for severe aplastic anemia: a retrospective analysis in a Brazilian hospital

Oliveira MM, Medeiros LA, Bitencourt MA, Setubal D, Funke VA, Sola CB, Nabhan SK, Neto JZ, Pasquini R, Malvezzi M

Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

Background: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a chronic and life-threatening hematopoietic stem cell disorder characterized by deficiency of the GPI-anchored complement inhibitory proteins CD55 and CD59 on blood cells. The resulting uncontrolled complement activation is responsible for chronic hemolysis and can lead to serious clinical morbidities including thromboembolism (TE) and chronic kidney disease (CKD), which have been shown to increase risk for mortality. While stem cell transplantation (SCT) remains the only potentially curative option for PNH, the risk for substantial morbidities and mortality still exist. In patients with PNH and severe aplastic anemia (SAA), this may be the only option to address severe pancytopenia if immunosuppression therapy does

not work **Aims:** Presentation of case series demonstrating the appearance of PNH clones in SAA patients post-SCT **Methods:** This study retrospectively analyzed 519 SAA patients who underwent SCT for severe pancytopenias between 1979 and 2012. SAA was defined by using the Camitta criteria, with marrow cellularity < 25% overall or < 50% with < 30% hematopoiesis; and two of the following: neutrophil count less than 500/ μ L, anemia with corrected reticulocyte count < 1%, or platelet count < 20,000/ μ L. **Results:** Six patients (1.2%) developed clinical and laboratory characteristics of PNH which were not present prior to SCT. At the time of SCT these patients, half of whom were female, median and range for select demographic and clinical characteristics were: age 21 years (17–38 years); absolute neutrophil count per μ L 224 (88–576), platelet count per μ L 6,000 (4,000–16,000), and number of transfusions before SCT 15 (4–45). All 6 patients were transplanted with bone marrow stem cells from HLA-identical siblings following administration of preparatory cyclophosphamide (200 mg/kg) and GVHD prophylaxis including use of methotrexate plus cyclosporine. One patient developed grade II acute GVHD. PNH was confirmed by positive Ham/sucrose test in 2 patients and by flow cytometry in 4 patients (Table 1). The median time from SCT to clonal expansion was 101 months (range: 51–182 months). Two patients underwent a repeated SCT using the same donor and same GVHD prophylaxis but using a preparatory regimen containing busulfan (8 mg/kg) plus fludarabine (125 mg/kg). As of January 2012, 1 patient had died due to severe pancytopenia 7 years after SCT; the remaining 5 patients are alive with no evidence of severe cytopenias. **Conclusions:** This is the first case series from our hospital in Brazil detailing the development and expansion of PNH clones following SCT in patients with severe pancytopenias. These findings demonstrate that while SCT is appropriate for SAA patients it may lead to PNH clonal expansion in some patients. This case series demonstrates that it is important to monitor patients post SCT for signs and symptoms of PNH.

0096

Uso de quelante de ferro e independência transfusional em paciente com anemia de Diamond-Blackfan

Kerbauy LN, Scanhola GQ, Tonon RC, Fonseca GH, Suganuma LM, Gualandro SF

Universidade de São Paulo – USP

Introdução: A sobrecarga de ferro secundária configura-se como uma complicação clássica das doenças hematológicas que cursam com necessidade transfusional frequente. O acúmulo de ferro em diversos órgãos pode conduzir à disfunção dos mesmos, afetando também a formação e a diferenciação da série eritróide. Nos últimos 20 anos, alguns relatos vêm associando o uso da terapia quelante de ferro (TQF), utilizada primariamente com o objetivo de prevenir as complicações da sobrecarga férrica, com a diminuição da necessidade de transfusões. Relatamos abaixo um caso de Anemia de Diamond-Blackfan (DBA), refratário aos tratamentos padrões, que evoluiu com independência transfusional após a introdução da TQF. **Relato de Caso:** APOS, gênero feminino, 25 anos, apresentava anemia com necessidade transfusional desde os 6 meses, sendo diagnosticada DBA aos 9 meses. Possuía anemia macrocítica com reticulocitopenia e hipoplasia medular eritróide, além de anomalias craniofaciais, encurtamento bilateral dos dedos das mãos e cariótipo normal. Seus pais eram primos em 1º grau, mas não havia casos semelhantes na família. Diante da ausência de resposta à corticoterapia, necessitou de transfusão durante toda a infância, associada ao uso irregular de Deferoxamina (DFO). Como consequência à sobrecarga de ferro transfusional, desenvolveu siderose hepática grau IV, hipogonadismo hipogonadotrófico e diabetes melito. Não obteve resposta também ao novo teste com corticóide, em 2006, e ao uso de metoclopramida,

em 2007. Até esta época, apresentava necessidade transfusional mensal. A partir de abril de 2009, com a substituição da DFO por Deferasirox (DFX) e a boa adesão da paciente, foi observada queda dos níveis de ferritina (de 2327 para 1119) e diminuição gradativa da necessidade transfusional. De março a junho de 2010, não necessitou de transfusão e, de agosto de 2010 a abril de 2011, as transfusões reduziram-se para uma frequência bimestral. A última ocorreu no dia 19/07/2011, sendo que a paciente mantém níveis elevados de hemoglobina (Hb) até os dias atuais. **Discussão:** Nas últimas 2 décadas, tem ocorrido grandes avanços na quelação de ferro em doenças primárias da medula óssea com necessidade transfusional. Neste período foram observados casos onde os níveis de Hb se elevaram, com diminuição do número de transfusões à medida que ocorria queda dos níveis de ferritina. A maioria destes relatos são de pacientes com síndrome mielodisplásica, mas este efeito também é descrito em casos de mielofibrose, talassemia e DBA. A maioria das descrições envolve o uso de DFX, mas outros quelantes também demonstraram efeitos similares, como DFO e Deferiprone. Os mecanismos que conduzem à diminuição da necessidade transfusional ainda permanecem obscuros. Em 2011, Taoka *et al.* demonstrou que, em ambientes com sobrecarga de ferro, ocorre inibição da formação de colônias eritróides e da diferenciação em eritroblastos maduros, além de elevação intracelular de espécies reativas de oxigênio e apoptose de eritroblastos imaturos. Observou-se reversão dessas alterações quando estas colônias forma expostas ao DFX. Frente às evidências pontuais, necessidade de estudos que comprovem os efeitos da quelação sobre a necessidade transfusional.

0097

Dinâmica telomérica e mutação no gene *DKC1* em caso de disceratose congênita

Scatena NF¹, Paiva RM¹, Donaires FS¹, Silva FM¹, Lemos BA¹, Benício MT¹, Roxo P², Valera ET², Calado RT¹

¹ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Telômeros são estruturas localizadas nas extremidades de cromossomos eucarióticos, responsáveis pela proteção do genoma. Quando uma célula se divide, os telômeros se encurtam devido à incapacidade da DNA polimerase em replicar plenamente as pontas dos cromossomos. Ao se tornarem muito curtos, uma cascata de sinalização celular é ativada, resultando em incapacidade de proliferação, senescência e apoptose. Células com alta atividade proliferativa expressam telomerase, uma transcriptase reversa que catalisa a síntese de DNA para manter o comprimento telomérico. Mutações ou perda de função em genes do complexo telomerase têm sido relacionadas a algumas doenças como disceratose congênita, anemia aplástica, fibrose pulmonar idiopática e cirrose hepática. Disceratose congênita (DC) é uma síndrome genética rara, clinicamente caracterizada por uma tríade clássica, que inclui pigmentação anormal de pele, distrofia ungueal e leucoplasia oral, além de outras características patológicas como falência medular e aumentada susceptibilidade ao câncer. Também é conhecida como "Síndrome do encurtamento telomérico", pois a maioria dos portadores apresentam telômeros muito curtos. No presente trabalho, abordamos um paciente de 3 anos de idade, branco, natural e procedente de Ribeirão Preto-SP. Seus sinais clínicos eram: pancitopenia, pneumonias de repetição, lesão esbranquiçada na língua, hiperpigmentação cutânea de pavilhão auditivo e distrofia ungueal. Biópsia de medula óssea se apresentou acentuadamente hipocelular, com quadro morfológico sugestivo de anemia aplástica. CT de crânio revelou sinais de hipoplasia cerebelar que, somada às características da tríade, sugerem o diagnóstico de DC.

O paciente, juntamente com sua mãe, uma mulher saudável e assintomática, de 28 anos, foram avaliados em busca de mutações no DNA ou outro achado que corrobore a hipótese diagnóstica. Para isso, ambos tiveram sangue periférico coletado para extração de DNA e posterior realização dos testes. Como controles saudáveis, utilizaram-se 231 amostras de sangue de doadores do Hemocentro de Ribeirão Preto-SP, de zero (cordão umbilical) a 63 anos. O DNA das amostras de sangue periférico foi extraído pelo *kit Gentra Puregene (Qiagen)* para purificação de DNA a partir de *buffy coat*. Para medida do comprimento telomérico, utilizou-se a técnica de Southern blot, considerada padrão-ouro para este fim, a partir do *kit Telo TAGGG (Qiagen)*. Para avaliação de mutações no DNA, realizou-se o sequenciamento direto por equipamento ABI 3130 (*Applied Biosystems*) e a análise pelo *software CLC Main Workbench 5 (CLC Bio)*. O comprimento telomérico do paciente mostrou-se curto para a idade, ficando abaixo do percentil 10, o que reforça o diagnóstico de DC. Além disso, o sequenciamento das amostras de DNA do paciente e de sua mãe detectou duas mutações diferentes. A primeira trata-se de um evento *de novo*, encontrada apenas na criança e localizada em uma região não-codificante, na posição IVS10 + 52, G>A. A segunda mutação, 1058C>T, presente em hemizigose no paciente e em heterozigose em sua mãe, resultou em uma substituição de aminoácidos A353V, a qual é encontrada em 30% de todos os casos de DC recessiva ligada a X. É possível que a detecção de mutações no DNA e do comprimento telomérico de pacientes auxiliem no diagnóstico e na caracterização da patogenidade da DC, podendo direcionar a futuras terapias mais eficazes.

0098

Relato de Caso: Efeito da presença de hemoglobina variante na determinação da concentração da hemoglobina glicada

Meirelles RD¹, Kamei CY¹, Pinto GH², Rizzatti EG¹, Teles MG³, Pintao MC¹

¹ Setor de Hematologia/Automação, Grupo Fleury, São Paulo, SP

² Setor de Hemoglobinopatias, Grupo Fleury, São Paulo, SP

³ Setor de Endocrinologia, Grupo Fleury, São Paulo, SP

Paciente de 34 anos, sexo feminino, sem histórico de diabetes mellitus (DM), glicemia de 90 mg/dL (valor de referência: 79 a 99 mg/dL), teve amostra encaminhada para dosagem de hemoglobina glicada (A1c). A dosagem realizada por Cromatografia Líquida de Alta Performance – HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), programa "VARIANT II turbo" (BioRad[®]) foi de 12.2% (valor de referência: 4% a 6%). Nova amostra foi encaminhada para confirmação e a dosagem de A1c foi realizada novamente por HPLC e também pelo método imunoensaio de inibição tubidimétrica (COBAS[®]). A nova dosagem de A1c por HPLC foi 11.8%, confirmando o resultado anterior, e a dosagem por turbidimetria foi 3,61%, (valor de referência: 4,8% a 5,9%). Com o intuito de investigar a presença de hemoglobina anômala que pudesse explicar esta discrepância, foi realizada análise por eletroforese capilar, eletroforese em gel de agarose em pH ácido e HPLC dedicada à pesquisa de hemoglobinas variantes, programa beta tal (Variant II – BioRad[®]). Os Resultados indicaram a presença de uma hemoglobina variante de difícil caracterização cujo tempo de eluição era muito próximo ao da hemoglobina A1c. Observou-se então, que a somatória da porcentagem da Hb desconhecida (8.3%) e da A1c (3.6%) foi equivalente ao resultado final da A1c dosada por HPLC (aproximadamente 12%), sugerindo que o resultado falsamente elevado por esse método se deve a interferência dessa hemoglobina. Não foram encontrados cromatogramas no arquivo da Bio-Rad[®] que identificassem a hemoglobina em questão, no entanto, a hemoglobina variante que mais se aproximou a do tempo de eluição descrito foi a I-Texas. A dosagem da hemoglobina glicada

é utilizada para avaliação do controle glicêmico, e para o diagnóstico de indivíduos com DM. Os valores de A1c estão diretamente relacionados ao risco de complicações crônicas do DM e refletem a média da glicose plasmática nos últimos três meses. A A1c é resultado da glicação não enzimática e irreversível nos resíduos de valina na porção amino-terminal das cadeias beta da hemoglobina. A concentração de A1c em indivíduos não diabéticos corresponde a aproximadamente 4% a 6%, podendo alcançar até 20% em diabéticos mal controlados. A depender do método utilizado para dosagem da concentração da A1c, Resultados falsamente elevados ou diminuídos podem ser observados em decorrência da presença de hemoglobinas variantes. No caso acima descrito, observamos um valor de A1c elevado, em discordância com o valor de glicemia e com o histórico da paciente. Esse fato levantou a suspeita da presença de hemoglobina anômala como interferente no ensaio. A realização de eletroforese de hemoglobina confirmou essa hipótese. Mais de 700 hemoglobinas variantes já foram descritas e aproximadamente metade delas são clinicamente silenciosas, ou seja, não apresentam repercussão clínica. Em resumo, amostras de pacientes com hemoglobinas variantes clinicamente silenciosas ou que apresentem discrepância entre os Resultados de A1c e o quadro clínico e laboratorial do paciente devem ser analisadas por diferentes metodologias. Resultados como este, enfatizam a necessidade do reconhecimento da interferência de hemoglobinas variantes nas diferentes metodologias para dosagem de A1c, e ratificam a importância de investigação adicional para detecção desses interferentes nos ensaios para dosagem da hemoglobina A1c.

0099

Relato de caso - Anemia sideroblástica associada à gestação

Farnese VC, Barquinerio LJ, Fonseca GH, Sukanuma LM, Gualandro SF

Universidade de São Paulo - USP

Relato de Caso: Paciente do sexo feminino, 37 anos, branca, G3P2A0, encaminhada ao ambulatório de hematologia do ICHC-FMUSP, com quadro de anemia associada a gravidez. Apresentou em última gestação anemia grave com necessidade transfusional, sem diagnóstico etiológico. Encaminhada pela ginecologia após nova gestação, com quadro de anemia sintomática, queixando-se de astenia, palpitações e dispnéia aos esforços, que se iniciaram no 2º trimestre de gravidez. Hemograma revelou 7g/dl de Hb, VCM 97, plaquetas 122 mil, reticulócitos 1,31%, ferro sérico 362, saturação de ferro 97%, DHL 327 U/l, vitamina B12 e ácido fólico normais. A microscopia de sangue periférico revelou policromasia, poiquilocitose e anisocitose. A paciente negava uso de medicações ou etilismo e o exame físico não mostrou anormalidades. Realizado punção de medula óssea, sendo identificado diseritropoese e presença de 50% de sideroblastos em anel. Iniciado piridoxina ainda durante a gestação, sem melhora da necessidade transfusional. Dois meses após o parto apresentou resolução espontânea e completa do quadro, atualmente assintomática, com HB de 12,2g/dl. **Discussão:** A anemia sideroblástica é um grupo heterogêneo de anemias hipoproliferativas, que apresentam em comum um defeito na biossíntese do heme. O sideroblasto representa o precursor eritróide com grânulos de ferro corados pelo azul da Prússia. A disposição perinuclear corresponde a deposição de ferro nas mitocôndrias, sendo sempre de caráter patológico. Estas células são denominadas de sideroblastos em anel. As anemias sideroblásticas podem ser divididas em congênicas ou adquiridas, estas últimas associadas a certas doenças, medicações e toxinas. Existem raros casos na literatura de anemia sideroblástica relacionada a gestação. Os poucos casos reportados retratam pacientes jovens, com anemia microcítica e hipocrômica grave e necessidade transfusional desde a primeira gestação, com recorrência em gestações

sucessivas e em uso de progestágenos. A resposta a piridoxina é pobre e a fisiopatogenia é desconhecida. Os sinais e sintomas tem resolução completa após o parto, assim como os achados de medula óssea. Não está claro se existe uma predisposição futura de desenvolvimento de síndrome mielodisplásica, devendo as pacientes serem acompanhadas por tempo indefinido. **Conclusão:** Apresentamos o relato de uma paciente com anemia sideroblástica durante a gravidez, com sintomas semelhantes em gestação anterior, não atribuídos as principais causas de anemia. A importância deste relato se deve a apresentação e evolução típicas e a raridade do caso, com escassas publicações na literatura médica.

0100

Relato de casos: Síndrome da Hemoglobina Lepore

Bordim RA¹, Prince MF¹, Mauad VA¹, Vieira J¹, Vieira FC¹, Silva IV¹, Amaro NS¹, Borduchi DM^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP

² Central Clinic

Introdução: Dentre as hemoglobinopatias, uma entidade rara é a Hemoglobina Lepore. Originada pela fusão de cadeias delta e beta, leva a quadros eritrocitários típicos da beta talassemia menor, devendo, portanto, ser considerada como diagnóstico diferencial frente a essa patologia. Embora muitos dos portadores da mutação genética em heterozigose possam ser assintomáticos, quadros anêmicos podem ser observados. A descendência balcânica aumenta a chance do aparecimento das mutações talassêmicas, inclusive de suas variantes mais raras, como a hemoglobinopatia Lepore. **Objetivos:** Relatar casos dessa hemoglobinopatia rara, em duas famílias distintas, observados em serviço privado no município de São Bernardo do Campo, SP. **Métodos:** Foi realizado levantamento dos prontuários dos pacientes citados na Central Clínica seguindo então à compilação dos dados e exames desses pacientes, a serem discutidos nesse trabalho. **Resultados:** Numa das famílias abordadas, a paciente NUV, então com 46 anos de idade, veio ao serviço para acompanhamento de hemoglobinopatia Lepore conhecida, com 7 anos de diagnóstico, eletroforese de hemoglobina Hb A1 = 79.9%; Hb A2 = 12.0%; Hb F = 8.1%, no *screening* familiar, foi verificada à alteração na mãe e em três de seus quatro filhos. Neste grupo todos os envolvidos apresentam anemia e são sintomáticos. A segunda família, com paciente também com diagnóstico prévio em busca de acompanhamento, verificou-se mutação em 2 irmãos, durante *screening* familiar. **Conclusão:** Embora rara, a entidade conhecida como hemoglobina Lepore deve ser considerada frente à suspeita de doença talassêmica, em especial Beta Talassemia menor, bem como *screening* familiar nesses pacientes, a fim de identificar possíveis portadores na mesma família. A região de São Bernardo do Campo foi colonizada por imigrantes italianos, muito frequentemente diagnosticamos portadores da Beta talassemia, portanto, mesmo sendo rara a hemoglobina de Lepore deve ser avaliada.

0101

Síndrome de Waterhouse-Friderichsen em paciente com hemoglobinúria paroxística noturna em uso de eculizumab

Leal CT, Candolo AA, Malta RO, Rabelo YS, Arantes AQ, Padilha PH, Ramos AF, Vassalli LC, Clé DV, Rodrigues RD

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma doença clonal adquirida das células precursoras hematopoéticas. Causada

por mutação somática no gene da fosfatidilinositolglicana classe-A (PIG-A), resulta no bloqueio precoce da síntese de âncoras de glicosil-fosfatidilinositol (GPI) e, conseqüentemente, deficiência de proteínas de superfície celular ligadas ao mesmo, dentre elas o CD55 e o CD59, importantes controladores da ativação da cascata do complemento. Clinicamente apresenta-se de maneira bastante heterogênea, desde apenas anemia hemolítica intravascular, a pancitopenia; e está associada a aumento da incidência de eventos trombóticos.

O Eculizumab é um anticorpo monoclonal humanizado, que bloqueia a ativação do complemento terminal no nível C5, previne a formação de C5a e o complexo de ataque à membrana (C5b-C9). Estudos demonstram sua eficácia e tolerabilidade, com redução da hemólise e do risco de trombozes. O aumento da incidência de infecções por bactéria capsuladas, tais como a *Neisseria meningitidis* é potencialmente a complicação mais grave do uso desta medicação. Relatamos o caso de uma paciente de 40 anos, feminina, com pancitopenia e diagnóstico de HPN há 9 anos. Durante o curso da doença evoluiu com diversas complicações, tais como embolia pulmonar de repetição, hipertensão pulmonar, trombose de seio venoso, trombose de veia renal, fistula nasal-liquórica, úlcera jejunal perfurada e hematoma de psoas. Mantida em tratamento prolongado com corticosteróides e suporte transfusional, e em maio de 2011 iniciado Eculizumab 600mg, intravenoso, 1x/semana, por quatro semanas com manutenção de 900mg a cada 2 semanas, posteriormente. Após 2 meses de terapia obteve melhora clínica e laboratorial, com controle da hemólise. Os níveis prévios de hemoglobina de 6,6g/dl ascenderam a valores em torno de 11g/dl e os de lactato desidrogenase (LDH), antes 8.605UI/L, reduziram para 572UI/L. Manteve-se sem necessidade transfusional. Apesar do controle da doença, 1 ano após o início do Eculizumab, foi admitida no serviço de emergência com febre de 40°C há 1 dia, associado a diarreia, artralgia e mialgia difusa. Evoluiu em questão de horas com hipotensão arterial, petéquias disseminadas, piora do estado geral e choque circulatório refratário, com posterior óbito, apesar das terapias instituídas, incluindo a administração de Ceftriaxona. Não apresentava sinais meníngeos. Laudo de necropsia compatível com necrose hemorrágica das adrenais bilaterais (Síndrome de Waterhouse-Friderichsen). A Síndrome de Waterhouse-Friderichsen foi descrita inicialmente em 1911, e apesar de estar classicamente relacionada à infecção por *N. meningitidis*, não é patognomônico dessa infecção. Há relatos de associação com infecção por estreptococos hemolíticos e estafilococos. Apesar de no presente relato não ter sido identificado o agente etiológico, demonstra-se a importância da vigilância constante em relação à ocorrência de infecções nos pacientes em uso do Eculizumab e da correta orientação destes para reconhecer precocemente os sinais e sintomas infecciosos. Mesmo em pacientes que receberam imunoprofilaxia, deve-se discutir o uso da Penicilina profilática.

0102

Relato de dois casos de infecções fúngicas atípicas em pacientes com anemia aplástica grave

Malta RO, Candolo AA, Leal CT, Rabelo YS, Oltramari MR, Arantes AQ, Vassalli LC, Carvalho LP, Dalmazzo LF, Simões BP

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

A Anemia Aplástica adquirida é uma doença caracterizada por pancitopenia associada a uma medula óssea hipoplástica, sem infiltração tumoral. A duração e a gravidade da neutropenia a qual esses pacientes são expostos, está relacionada com o aumento da incidência de infecções, sendo essa a principal causa de óbito nesses pacientes. A neutropenia grave prolongada constitui o principal fator de risco para micose invasiva. *Cândida spp*, *Aspergillus spp*, *Fusarium spp* e *Zigomycetos spp* são os pató-

genos mais envolvidos nesses casos. Apresentamos dois casos de pacientes acompanhados no serviço de Hematologia do HC FMRP, com diagnóstico de Anemia Aplástica Grave submetidos a terapia imunossupressora com globulina anti-tímócitos de coelho, que evoluíram com neutropenia febril. O aspecto radiológico e naso-fibros cópico foram compatíveis com sinusite fúngica invasiva, que foi confirmado por anatomopatológico. No meio de cultura do material retirado houve crescimento de fungos atípicos (Bipolares spp e Paecylomyces spp). Um dos pacientes apresentou evolução desfavorável, com internação prolongada e foi a óbito. O segundo caso houve controle da infecção, e o mesmo mantém seguimento ambulatorial, em uso de Itraconazol. Apesar da pequena prevalência e de haver poucos relatos de infecção por fungos atípicos nos pacientes imunocomprometidos, há notoriamente uma maior susceptibilidade decorrente, tanto pela neutropenia relacionada a doença de base, quanto ao tratamento imunossupressor. É importante lembrar que o uso prolongado de antimicrobianos pode servir como meio de seleção de germes atípicos. A profilaxia antifúngica, o diagnóstico precoce e a instituição de terapia adequada devem fazer parte da rotina no manejo dos pacientes com anemia plástica grave. A infecção por germes atípicos deve ser considerada em casos de evolução desfavorável.

DOENÇAS DA SÉRIE VERMELHA: ANEMIAS CARÊNCIAIS E HEMOCROMATOSE

0103

Síndrome de Heyde

Damasceno JA, Cunha CS, Jones MS, Reis BC, Procaci VR, Abraham NM, Cotia ALF

Centro Universitário de Volta Redonda – UniFOA, Volta Redonda, RJ

Introdução: A Síndrome de Heyde é uma doença rara definida pela tríade: estenose aórtica, coagulopatia adquirida e anemia decorrente de angiodisplasia intestinal hemorrágica. **Relato de Caso:** M.S.A., feminino, de 82 anos, procurou atendimento médico com queixa de fadiga, iniciada há 2 meses. Ao exame físico não apresentava nenhuma anormalidade, exceto palidez. O hemograma mostrava anemia normocítica e normocrômica, sem demais anormalidades. Os exames realizados para esclarecimento diagnóstico confirmaram anemia ferropriva. Foi então iniciada terapia com ferro oral e encaminhada ao gastroenterologista a fim de ser realizada investigação do tubo digestivo. A endoscopia e colonoscopia não mostraram nenhuma anormalidade, porém a endoscopia por cápsula permitiu a visualização de angioectasias em todo duodeno e jejuno o que levou a hipótese de síndrome de Heyde. A confirmação da suspeita diagnóstica foi obtida pela detecção de estenose leve de válvula aórtica, ao ecocardiograma, e atividade do fator de von Willebrand reduzida. **Discussão:** A associação de sangramento gastrointestinal por angiodisplasia, deficiência de multímeros de elevado peso molecular do fator de von Willebrand (FvW) e estenose valvar aórtica compõem a rara síndrome de Heyde. A medida que passa pela válvula estenótica, ocorre proteólise do FvW levando a perda dos multímeros de elevado peso molecular gerando a síndrome de von Willebrand, que é como é chamada a doença na sua forma adquirida. Sangramento de mucosas, incluindo o sangramento originado da mucosa gastrointestinal, é bastante comum na maioria dos subtipos de Síndrome de von Willebrand. Os multímeros de elevado peso molecular, destruídos pela válvula estenótica, são os mais eficazes em manter a hemostase em situações de elevado fluxo como ocorre nas malformações arteriovenosas angioplásticas. Estudos demonstram que até 21% dos pacientes que apresentam este-

nose aórtica apresentaram sangramento de pele e de mucosas. No caso relatado, o sangramento gastrointestinal, proveniente da Síndrome de von Willebrand e angiodisplasia intestinal, levou a anemia ferropriva motivando a investigação diagnóstica.

0104

Avaliação da hiperferritinemia numa amostragem de 5306 casos: as médias encontradas foram clinicamente significativas

Biasoli R¹, Freitas AC², Marani RJ², Camilo AL², Pinto KC¹, Laporta AP¹, Serafim MS¹

¹ Laboratório ALTA Excelência Diagnóstica - SP

² Laboratório Diagnósticos da América SA – SP

Introdução: Achados de hiperferritinemia são comuns na prática clínica e, muitas vezes, um desafio diagnóstico para o médico, devido a diversidade fenotípica e genotípica que envolve o aumento desta proteína no organismo. Apesar de haver muitos estudos na literatura sobre a ferritina e suas funções biológicas pouco foco é dado sobre o nível de sua elevação, na intenção de observar uma possível relação com a gravidade da injúria tecidual ou orgânica. O objetivo deste estudo foi identificar os níveis médios laboratoriais de hiperferritinemia, encontrados numa amostragem de cinco mil, trezentos e seis casos na cidade de São Paulo, de etiologia desconhecida, e obtidos de forma aleatória. Os pacientes foram oriundos do Laboratório Diagnósticos da América - SA, atendidos entre setembro de 2008 e fevereiro de 2009 e divididos por faixa etária e sexo. A ferritina sérica foi mensurada por metodologia de quimioluminescência. **Resultados:** Houve maior incidência de hiperferritinemia no sexo masculino e na faixa etária entre 20 a 59 anos, que em mulheres. A hiperferritinemia média masculina entre 0 a 9 anos foi de 1227,86 ng/mL; de 10 a 19 anos: 1251,90 ng/mL e de 20 a 59 anos, 616,17 ng/mL. Acima dos 60 anos e nos mesmo sexo, 755,10 ng/mL. Para o sexo feminino, entre 0 a 9 anos foi de 737,92 ng/mL; de 10 a 19 anos: 1082,52 ng/mL; de 20 a 59 anos, 728,87 ng/mL e acima de 60 anos, 669,72 ng/mL. **Conclusão:** A hiperferritinemia média para o sexo feminino e masculino, apesar da grande amplitude e variância encontrada no estudo, mostrou-se em níveis clinicamente significativos, com intervalo médio entre 616,16 ng/mL a 1251,90 ng/mL, o que demanda impacto terapêutico devido aos riscos da sobrecarga de ferro em órgãos nobres. Com estudos futuros, talvez possamos estratificar níveis de hiperferritinemia e trazer à luz do conhecimento uma nova abordagem ao assunto. **Palavras-chave:** Hiperferritinemia; ferritina; hemocromatose; sobrecarga de ferro.

0105

Novos parâmetros eritrocitários e reticulocitários na diferenciação das anemias microcíticas com e sem deficiência de ferro

Torino AB, Gilberti MF, Lima GA, Costa E, Grotto HZ

Departamento de Patologia Clínica, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Novos parâmetros relacionados às hemácias maduras e aos reticulócitos tem sido propostos como auxiliares na diferenciação laboratorial das anemias microcíticas. Nesse estudo avaliamos a eficácia desses índices na diferenciação de 3 tipos de anemias: anemia ferropriva (AF, n= 41), beta talassemia heterozigótica (beta tal, n= 34) e anemia de doença crônica, dividida em 2 subgrupos: com microcitose (ADC, n= 43) e sem microcitose (ADC NN, n= 26). Grupo controle: 54 indivíduos saudáveis, sem anemia. Os parâmetros avaliados foram: Ret-He (conteúdo de hemoglobina dos reticulócitos), RBC-He (conteúdo de hemoglobina dos eritrócitos

obtido pelo canal de contagem óptica de hemácias), MicroR (% de hemácias microcíticas), MacroR (% de hemácias macrocíticas), % HIPO-He (% de hemácias hipohemoglobinizadas), % HIPER-He (% de hemácias hiperhemoglobinizadas) e as equações MicroR - Ret-He e a razão MicroR/HIPOHe, obtidos do equipamento hematológico Sysmex XE-5000. Comparando a AF com a beta tal, foi possível verificar que tanto as hemácias maduras como os Rets são menos hemoglobinizados e a % de hemácias microcíticas é significativamente superior na beta tal. O índice MicroR-Ret-He foi o melhor parâmetro para diferenciar as duas condições (área sob a curva ROC= 0,959, S=92,7% e E=91,2% para *cutoff* de 13,8). Os grupos com AF e ADC com microcitose não mostraram diferença nos níveis de hemoglobina e ferro sérico, mas o conteúdo de Hb dos Rets e das hemácias maduras foi menor na AF, enquanto a %HIPO-He foi maior. O grupo com ADC NN mostrou VCM e HCM semelhantes ao grupo controle normal, mas a deficiência funcional de ferro pôde ser evidenciada pelas porcentagens de MicroR e HIPO-He que foram significativamente superiores no grupo ADC NN, enquanto o conteúdo de Hb dos Rets foi inferior quando comparados ao normal. Os Resultados obtidos são condizentes com a fisiopatogenia dos diferentes tipos de anemias avaliadas. Na beta tal a formação de hemácias microcíticas e hipohemoglobinizadas é mais evidente do que nas anemias microcíticas decorrentes de distúrbios no metabolismo do ferro. Nos dois subgrupos de ADC, com e sem microcitose, foi possível observar que os parâmetros relacionados ao grau de hemoglobinização das hemácias e reticulócitos mostraram valores inferiores ao grupo controle, sugerindo uma menor disponibilidade de ferro para a síntese de hemoglobina nesses indivíduos, provavelmente devido ao processo inflamatório associado. No grupo com ADC e microcitose essas alterações foram mais evidentes, dados compatíveis com a provável deficiência absoluta de ferro associada. Os Resultados dos índices referentes à % de hemácias hipocrômicas e conteúdo de Hb de hemácias e reticulócitos podem ser utilizados como auxiliares no diagnóstico diferencial das anemias microcíticas, assim como na diferenciação da ADC com outras anemias normocíticas não relacionadas a alterações no estado do ferro. No seu conjunto, podemos sugerir que esse novos índices podem ser incorporados à rotina laboratorial, podendo representar uma agilização no diagnóstico diferencial das anemias.

0106

Manifestação atípica da deficiência de cianocobalamina

Riani LR, Pimentel LF, Moussa MP, Barbosa PF, Maia CP, Queiroz VS, Sá DM, Gustin EC, Júnior RA, Santos FA

Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Uberlândia, MG

Introdução: O caso a seguir mostra uma apresentação atípica de deficiência de vitamina B12. Relato do caso: M.B.E., 18 anos, deu entrada no PS- CM HC-UFU, após atendimento psiquiátrico, devido à agitação psicomotora e agressividade, acompanhados de parestesias em membros superiores e face, alucinações auditivas, hiporexia e movimentos estereotipados de boca e língua. Evoluiu com quadro de disfagia, afasia de expressão, períodos de disautonomia e febre, além de miopatia. Ao exame apresentava taquicardia sinusal, não contactuante, arresponso a comandos com emissão de sons incompreensíveis. O restante do exame físico era normal. Apresentava tratamento prévio para transtorno depressivo com Fluoxetina e estava em uso de Quetiapina e Clonazepam, prescritos por Psiquiatra, suspensos à internação. Descartadas causas infecciosas, com urocultura e hemocultura negativas, líquido céfalo-raquidiano normal, com DNA para Herpes-Vírus negativo, sorologias negativas para vírus B e C, VDRL, HIV e HTLV, além de Ecocardiograma transesofágico sem evidências de vegetações ou trombos intracavitários. Descartadas também causas estruturais e genéticas, com Tomografia e Ressonância Nucle-

ar Magnética de encéfalo normais, além de pesquisa genética para Doença de Huntington negativa. A pesquisa de causas metabólicas e auto-imunes para os distúrbios eram normais, exceto pela presença de anemia carencial, por vitamina B12, com valores de hemoglobina de 9,1, volume corpuscular médio de 95,4, hemoglobina corpuscular média de 31,5, e vitamina B12 125,2 pg/ml. A endoscopia digestiva alta revelou gastrite crônica ativa discreta com acúmulo linfóide. Anticorpos anti-fator intrínseco e anti-células parietais negativos. Realizada reposição de vitamina B12 por via intramuscular na dose de 5.000mcg diárias por 1 semana, seguida por 1 dose semanal por 1 mês e por dose mensal de manutenção associados à reposição de ácido fólico, com melhora dos sintomas neurológicos sensoriais, comportamentais e cognitivos, recebendo alta hospitalar, com níveis séricos adequados de cianocobalamina. Segue em acompanhamento ambulatorial com a pendência da realização de colonoscopia para avaliar possíveis patologias em íleo terminal como causa etiológica. **Conclusão:** A deficiência de vitamina B12 induz um aumento de homocisteína, que participa da metilação da metionina. As manifestações neurológicas da deficiência de cianocobalamina, apresentam-se classicamente sob a forma de degeneração subaguda combinada de colunas lateral e dorsal da medula espinhal. A neuropatia em geral, é simétrica e afeta predominantemente os membros inferiores. Inicia-se com parestesias e ataxia associada à perda vibratória e perda da propriocepção consciente, podendo progredir para espasticidade, clônus, paraplegia e eventualmente, incontinência fecal e urinária. A ação neurotóxica da homocisteína produz ativação excitatória nos gânglios da base, principalmente na região tálamo-cortical, podendo levar à distonia. O excesso dos níveis de metil, eleva os níveis do metiltetrahidrofolato que atua como agonista do ácido cálcico. Em experimentos animais, essa neurotoxina produz um déficit semelhante aos encontrados nos pacientes com Doença de Huntington. À respeito da nossa paciente, essas relações fisiopatológicas são somente especulativas, mas com a reversibilidade dos sintomas após a suplementação com cianocobalamina, podemos aventar tal hipótese. A importância desse relato é revelar a manifestação atípica da deficiência de tal vitamina.

0107

Preditividade a traço talassêmico ou a anemia ferropriva através da aplicação dos índices de automação para o hemograma

Mezzomo J, Mota PC

Instituto Cenecista de Ensino Superior de Santo Ângelo – IESA, Santo Ângelo, RS

Introdução: A anemia é considerada o maior problema carencial do mundo, pois mais de 1/3 da população sofre dessa patologia. No Brasil, a anemia por deficiência de ferro é a principal causadora de anemias microcíticas. Outro fator que também causa microcitose em pacientes anêmicos é a talassemia, uma hemoglobinopatia de ordem genética, comumente frequente em povos da Europa. **Objetivos:** O estudo teve como objetivo avaliar o eritrograma de pacientes com anemia microcítica atendidos em um laboratório hospitalar da região noroeste do RS, e através da aplicação de três índices de automação para hemograma nos Resultados obtidos, verificar a predictividade da população estudada à anemia ferropriva ou a traço talassêmico. Estes são índices matemáticos derivados dos parâmetros eritrocitários que permitem a obtenção de valores numéricos preditivos para anemia ferropriva ou traço talassêmico, e compreendem as fórmulas de Mentzer (VCM/RBC), Green & King ((VCM)² x RDW / Hb x 100) e England (VCM – RBC – (Hb x 5) – 3,4). Todas as fórmulas se fundamentam em itens básicos do eritrograma, como RBC (Red Blood Cell), Hb (hemoglobina), VCM (volume corpuscular

médio) e RDW (Red Cell Distribution Width). **Métodos:** Foi realizada uma pesquisa exploratória, com coleta de dados, onde se analisou o resultado de 9757 hemogramas, sendo triados todos os que apresentaram anemia microcítica, conforme os valores de referência estabelecidos pela OMS. Após, foram aplicados os três índices de automação para hemograma, a fim de classificar cada amostra. **Resultados:** Encontrou-se 201 casos de anemias microcíticas (2,06%). Depois de aplicadas as fórmulas de triagem, foram observadas a ocorrência de 178 (88,56%) amostras com predictividade para anemia ferropriva e 23 (11,44%) com predictividade para traço talassêmico. **Conclusões:** A prevalência de casos preditivos a anemia ferropriva na população estudada é bem menor do que a incidência encontrada em outros estudos realizados no Brasil. Os casos preditivos de traço talassêmico também incidiram abaixo do esperado, mesmo que a região de estudo seja colonizada por descendentes de europeus. O emprego das 3 fórmulas utilizado isoladamente não define o diagnóstico, porém, pode servir de auxílio ao paciente na minimização de custos por prescrição de exames complementares na pesquisa de casos de talassemia.

0108

Perfil hematológico de idosas que frequentam um grupo de atividade física na região da Fronteira, Oeste do Rio Grande do Sul

Mezzomo J, Tavares GM, Nunes VT, Manfredini V, Piccoli JC

Universidade Federal do Pampa - Unipampa, Uruguaiana, RS

Introdução: Entende-se por envelhecimento as alterações fisiológicas que ocorrem ao longo do tempo no organismo. O envelhecimento tem aumentado a prevalência de doenças crônicas e incapacitantes. As principais doenças hematológicas na terceira idade são a anemia, as hemorragias e leucemias crônicas. A anemia por deficiência de ferro é a mais prevalente e considerada um problema de saúde pública entre os idosos. Entre as causas destacam-se a diminuição da absorção de nutrientes essenciais como o ferro e vitamina B12, processos gástricos e ulcerativos. **Objetivo:** Assim, o objetivo deste estudo foi verificar a frequência de alterações hematológicas e plaquetometria em idosas que frequentam um grupo de atividade física. **Métodos:** Foram coletadas 76 amostras de sangue total venoso de idosas participantes de um grupo de atividades físicas do SESC Uruguaiana/RS. Os tubos EDTA contendo as amostras foram levados ao laboratório de análises clínicas central para determinar através de contagem eletrônica os parâmetros hematológicos e plaquetometria. Todas as participantes responderam questionário padrão e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. **Resultados:** Foram analisadas 76 amostras de sangue total de idosas com média de idade de 69,2 anos, sendo que elas apresentaram alteração do perfil hematológico na série vermelha. Observou-se que a média do número de eritrócitos foi de 4,2 ± 0,4 milhões/mm³, hematócrito 34,4 ± 7,1% e níveis de hemoglobina de 11,7 ± 1,3 g/dL, o que caracteriza um processo anêmico. **Discussão:** Os Resultados apontam que as idosas participantes do grupo apresentam um quadro anêmico comum pela faixa etária, porém preocupante uma vez que, a anemia causa fadiga, dores musculares, falta de apetite e depressão. Estudos complementares sobre o perfil nutricional das idosas poderão esclarecer melhor a causa da anemia e formas de prevenção.

0109

Telangiectasia hemorrágica hereditária - relato de caso

Carnelli GR, Peixoto LM, Costa AC, Santos MD

Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Vitória, ES

Introdução: Telangiectasia hemorrágica hereditária (THH) ou Síndrome de Osler-Weber-Rendu é uma rara displasia fibrovascular sistêmica, hereditária, com transmissão autossômica dominante^{1,2,3}, caracterizada por telangiectasias mucocutâneas⁴ e malformações arterio-venosas, provenientes da desorganização no desenvolvimento da vasculatura⁵. **Relato de Caso:** LT, 49 anos, feminino, pós-menopausa, sem histórico familiar confirmado de THH, chegou ao ambulatório de hematologia do Hospital Universitário Cassiano Antonio de Moraes há 8 anos, com histórico de lesões hemangiomas em mucosa esofágica e em cordas vocais, diagnosticadas aos 15 anos de idade e confirmadas com nova endoscopia. História pregressa de epistaxe, interrompida espontaneamente na adolescência; além de fadiga intensa e episódios de lipotímia. Durante a sua segunda gestação, aos 36 anos, apresentou fadiga, fraqueza e vertigens, com níveis de hemoglobina baixos, sendo o menor deles 3g/dL, após o parto. Não há história de gengivorragia, dor abdominal, retorragia, distúrbios visuais e neurológicos, síncope ou hemoptise. Há 4 anos, câncer de mama à direita, recebendo quimioterapia (Fluorouracil, Adriamicina e Ciclofosfamida – FAC), radioterapia; e tamoxifeno, com acentuação de malformações arteriovenosas (hemangiomas) já existentes. Ao exame clínico, palidez cutânea, cianose em extremidades de quirodactilos, baqueteamento digital e presença de telangiectasias distribuídas difusamente em todo o corpo, com predomínio em abdome, membros superiores e lábio inferior; e ainda, graves lesões hemangiomas múltiplas, em regiões de epigástrico, hipocôndrio e flanco direitos, membros inferiores, principalmente em região maleolar bilateral, planta dos pés, membro superior direito e articulações interfalangeanas. Investigações revelaram anemia microcítica e hipocrômica, por deficiência de ferro, de difícil controle, além de níveis elevados de Hb S presentes em eletroforese de hemoglobina (40%). Visando avaliar outras possíveis malformações, foram realizados: endoscopia digestiva alta- lesão vegetante em corda vocal, ectasia de vasos em esôfago superior, ectasia vascular gástrica e atrofia de mucosa gástrica; colonoscopia- sigmoide com áreas focais de enantema leve; biópsias do trato gastrointestinal- gastrite crônica em atividade, duodenite e colite eosinofílica; e ultrassonografia abdominal- vesícula biliar com lesão mínima de 5,2 mm, imóvel e homogênea (“pólipo biliar”). Atualmente, encontra-se em acompanhamento ambulatorial para compensação da anemia, em uso Noripurum®. **Discussão:** Atualmente, defeitos em pelo menos 4 genes estão implicados na THH, todos relacionados à sinalização de TGF-β, importante via de formação e reparação vascular^{6,7,8}. No entanto, aproximadamente 85% dos casos são provocados por mutações em 2 desses genes: gene codificador da endoglin (ENG); e gene do receptor de ativina tipo quinase-1 (ALK-1)⁵. A tríade clássica de epistaxe, telangiectasia e histórico familiar é facilmente reconhecida. Entretanto, devido à ausência da tríade em todos os casos, foram estabelecidos os Critérios de Curação (epistaxe, telangiectasias múltiplas, lesões viscerais e história familiar) para facilitar o diagnóstico⁹. Nosso caso, por enquadrar-se nos 3 primeiros critérios, apresenta diagnóstico definitivo. O tratamento da THH é apenas paliativo, sem consenso a respeito da melhor terapêutica. O fundamental é promover o controle da doença^{2,10,11}.

0110

Papel da ressonância magnética – T2* na hemocromatose hereditária.Assis RA¹, Kay FU², Campregher PV³, Szarf G², Conti FM⁴, Diniz MS⁵, Sitnik R³, Rodrigues M¹, Helman R¹, Funari MB², Hamerschlag N¹¹ Departamento de Hematologia, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP² Departamento de Radiologia, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP³ Medicina Diagnóstica, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP⁴ Departamento de Hemoterapia, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP⁵ Instituto de Ensino e Pesquisa, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Introdução: A hemocromatose hereditária (HH) é uma doença caracterizada por aumento da absorção intestinal de ferro. Nos últimos anos a ressonância magnética (RM), através da mensuração direta do T2* tecidual, vem conquistando espaço como uma metodologia confiável e robusta na detecção de sobrecarga de ferro, com melhor desempenho que os métodos indiretos na hemosiderose transfusional, mas seu papel na HH ainda é pouco conhecido. **Objetivos:** Descrever o perfil de pacientes com HH tipo 1 em relação ao tipo de mutação do gene *HFE*, e correlacionar os parâmetros laboratoriais com a RM-T2*. **Métodos:** Localizamos 81 pacientes com alguma mutação positiva para o gene *HFE* e que realizaram RM-T2* abdômen e/ou cardíaca em nosso serviço. As imagens foram recuperadas do arquivo digital e analisadas por 2 radiologistas independentes, de forma cega, utilizando o *software* Thalassemia-Tools (Cardiovascular Imaging Solutions, London, UK). **Resultados:** Dos 81 pacientes, 76(93%) eram do sexo masculino e 5(6,2%) feminino, com uma idade mediana de 48 anos (21-80 anos). A análise de T2* para fígado, pâncreas, baço e cálculo de LIC, foram realizados em 80 casos e T2* cardíaco em 57. O coeficiente de variação inter-observador para o T2* foi de 5%. A ferritina sérica estava alterada em 70 pacientes (90,9%), enquanto que a saturação de transferrina (ST) alterou-se em 34% dos testes. Houve predomínio da mutação H63D, detectada em 70 (86,4%) pacientes, sendo: 11(13,6%) em homozigose, 59(72,8%) heterozigose e 7(8,6%) com dupla heterozigose (C282Y/H63D). Três (3,7%) eram homozigotos para a mutação C282Y e 6 (7,4%) tinham heterozigose simples (C282Y/-). A mutação S65C em heterozigose foi detectada em 2 (2,5%) casos. Na análise das RM cardíacas, detectamos 2 casos de sobrecarga leve (T2*: 18,98 e 19,14 ms), ambos com mutação H63D (1 homozigose e 1 heterozigose simples). Dos 80 casos com RM abdominal, 37 (46,3%) tinham sobrecarga hepática, sendo 33 (41,3%) e 4 (5%) com sobrecarga leve e moderada, respectivamente. Analisando a frequência de sobrecarga ferrica hepática de acordo com o tipo de mutação, encontramos 77,8% dos portadores da mutação C282Y isolado; 57,2% dos duplo mutado e 40,3% dos portadores de mutação H63D em hetero ou homozigose. Vinte casos (25,1%) tinham sobrecarga em pâncreas e 30 (37,5%) sobrecarga esplênica. Observou-se uma correlação discreta (r: 0,365) entre T2* fígado e T2* baço (p=0,001). A presença das mutações C282Y e H63D estão estatisticamente associadas à maior frequência de alteração do T2* hepático (p=0,017 e p=0,042, respectivamente). A presença da mutação H63D (homo ou heterozigose) acarretou acúmulo hepático de ferro (p=0,037), mas os homozigóticos tinham maiores taxas de sobrecarga hepática (p=0,038). **Conclusão:** Nossos achados diferem da literatura com relação à sobrecarga nos portadores da mutação H63D. Esta maior positividade pela RM pode estar relacionada à uma maior sensibilidade desta metodologia em diagnosticar precocemente níveis baixos de sobrecarga orgânica de ferro. O impacto clínico desta maior sensibilidade deve ser investigada em estudos posteriores. Nos nossos pacientes a ferritina foi um melhor

marcador de sobrecarga que a ST. Apesar de o estudo ter falhas, particularmente pela ausência de todos os de testes laboratoriais e RM, tendo em vista a validade da RM-T2* na hemocromatose secundária, consideramos este método promissor para definir condutas terapêuticas na HH.

0111

Estudo do perfil dos pacientes atendidos na triagem do HEMOBA

Freire C, Gonzaga M, Gordiano A, Schittini A, Rocha L, Carmo RD

Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia – HEMOBA, Salvador, BA

Introdução: O hemocentro do Estado da Bahia realiza diariamente uma avaliação dos pacientes provenientes de todo Estado com solicitação de consulta com hematologista, com as mais variadas alterações laboratoriais e clínicas. Esta avaliação é realizada por enfermeiro e médico e diante do número elevado de solicitações de avaliação, foi efetuado um levantamento dos atendimentos de triagem nos anos 2010 e 2011, levando em consideração as indicações de atendimento. **Métodos:** Os dados foram classificados de acordo com o número total de atendimentos/ ano; localidade de proveniência dos pacientes (capital ou interior); quantos desses atendimentos se enquadravam em doença hematológica benigna que necessitou de matrícula no hemocentro referido, em destaque os pacientes com Doença Falciforme; quantos foram encaminhados para um serviço de onco-hematologia (visto que o Hemocentro acompanha apenas doenças hematológicas benignas) e quantos poderão fazer acompanhamento com o médico clínico/pediatra. **Resultados:** Foram encontrados 4.605 pacientes atendidos no ano de 2010 (os dados de 2011 serão finalizados até a publicação deste trabalho) sendo 60% provenientes do interior do Estado, 38% do sexo masculino. Apenas 15% foi matriculado para iniciar acompanhamento do serviço (sendo 6% Doença Falciforme) e a maior parte (65%) foi encaminhada para acompanhamento com clínico geral/pediatra. Do total de pacientes atendidos pela triagem, 20% apresentavam doença onco-hematológica sendo encaminhados para serviço apropriado. **Conclusões:** Observamos que a maior parte dos encaminhamentos para “consulta com hematologista” tratava-se de doenças não-hematológicas com necessidade de seguimento com clínico geral/pediatra ou outra especialidade (doenças sistêmicas com repercussão hematológica). Além disso, percebemos que ainda existe um diagnóstico tardio da Doença Falciforme e também um encaminhamento errôneo dos diagnosticados como “traço” S ou C para acompanhamento com hematologista. Chama à atenção também o número de patologias malignas diagnosticadas e a dificuldade emergente do encaminhamento destes pacientes para o serviço especializado.

0112

Efficacy and safety of deferasirox in patients with iron overload secondary to hereditary hemochromatosis: preliminary results of a 1-yr prospective study

Cancado R¹, Melo MR¹, Bastos RM¹, Santos PC², Guerra-Shinohara EM³, Chiattoni C¹

¹ Faculdade de Medicina da Santa Casa de São Paulo – FCMSCSP, São Paulo, SP

² Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração - InCor, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - HC-FMUSP, São Paulo, SP

³ Departamento de Química Clínica e Toxicológica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, SP

Background: Hereditary hemochromatosis (HH) is one of the most common genetic diseases, and may be associated with excessive absorption of dietary iron in some cases. If untreated, progressive iron accumulation in key organs leads to toxicity, resulting in tissue damage and organ dysfunction. Iron overload (IOL) can be readily managed in most patients by therapeutic phlebotomy. However, patients with underlying anemia and/or difficult venous access may not tolerate this treatment. In addition, compliance may be variable over time as a result of the inconvenience of frequent visits and the discomfort associated with the procedure. Clinical studies have demonstrated the efficacy, safety, and tolerability of deferasirox (DFX) in patients with a variety of conditions associated with transfusional IOL. Studies reporting iron chelation therapy in patients with primary (nontransfusional) IOL are limited, but data are encouraging. **Aims and Methods:** DFX at the starting dose of 10 mg/kg/day was administered orally for 1 year in patients with HH (C282Y/C282Y, C282Y/H63D or H63D/H63D gene mutation) and Iron Overload (defined as transferrin saturation [TS] \geq 45% and serum ferritin [SF] level \geq 500 μ g/L confirmed at two visits and liver iron concentration (LIC) by MRI \geq 5 mg Fe/g dw at study entry) who were unable or unwilling to comply with a regimen of phlebotomy. The study objectives were to evaluate the changes in TS, SF and LIC levels and the efficacy (reduction of 50% SF from baseline and/or achievement of SF < 300 μ g/L) and safety of DFX. Efficacy was assessed monthly by measuring changes from baseline in TS and SF levels. LIC by MRI was measured at baseline and after 1 year of treatment or when SF was < 300 μ g/L. Safety was evaluated monthly, based on the incidence and type of adverse events and changes in laboratory parameters, including serum creatinine and liver enzymes. **Results:** A total of 10 adult patients were included and all of them completed the 1-yr treatment period (Table 1). Median (range) age was 52.0 years (44-67); 60% female, 100% caucasian, 70% with C282Y/C282Y HFE gene mutation. Median (range) DFX exposure dose over 12 months was 12 mg/kg/day (10-15). The main reasons patients were unable or unwilling to comply with a regimen of phlebotomy were: β -thalassemia minor (5), hereditary spherocytosis (1), difficult venous access (5). Median SF levels (μ g/L) decreased significantly at 12 months compared to baseline (from 1608.5 to 300.0, $p < 0.001$) (Figure 1). Median LIC dropped significantly at 12 months compared to baseline (from 14.5 to 5.5, $p < 0.001$) (Figure 2). The median time to achieve a SF reduction \geq 50% compared to baseline was 7.53 months. The most common drug-related AEs were mild, transient diarrhea (5 patients) and nausea (2). No patient experienced increases in serum creatinine that exceeded the upper limit of normality. **Conclusions:** Our preliminary data confirm that deferasirox is effective in reducing body iron burden and well tolerated in patients with HH, with a clinically manageable safety profile when used at the appropriate dose, and could be a safe treatment alternative to phlebotomy in selected patients.

0113

Screening de sobrecarga de ferro: o papel da ferritina e sua associação com Síndrome Dismetabólica e hemocromatose hereditária

Melo AL¹, Nonino A^{1,2}, Lima IS³, Neto JV^{1,2}, Freitas LF¹, Silveira CA^{1,2}

¹ Hospital de Base do Distrito Federal – HBDF, Brasília, DF

² Centro de Cancer de Brasília – Cetro, Brasília, DF

³ Florida State University, Florida, FL, USA

Introdução: Após a descoberta do gene HFE e suas mutações clinicamente relevantes em 1996, tornou-se possível o rastreamento genético da hemocromatose. Vários estudos tem tentado definir o risco de sobrecarga de ferro (SF) associado a doença e um modelo racional de *screening*, porém são controversos devido a vieses do observador e da amostra e penetrância variável da doença. Devido

a baixa penetrância da HH, o rastreio é mais caro que o tratamento, o que desestimula a investigação de rotina e desperta a busca de novos indicadores. Nesse contexto, destaca-se a hiperferritinemia (HF), cuja presença recomenda a investigação de HH, apesar da existência de três fatores confundidores: inflamação, etilismo e síndrome dismetabólica (SD). Nosso objetivo foi avaliar a correlação entre HF e SF e/ou mutação no gene *HFE* e identificar possível associação com SD. **Métodos:** coorte retrospectiva, que incluiu pacientes com HF no período de janeiro de 2006 a maio de 2012, atendidos em instituição privada do Distrito Federal. Foram excluídos pacientes com neoplasias, hemoglobinopatias, politransfundidos e com doenças infecciosas em atividade. Os dados foram analisados pelo teste de correlação de Pearson, teste exato de Fisher e ANOVA. **Resultados:** identificados 259 pacientes- 217(83,8%) homens e 42(16,2%) mulheres. A mediana de idade foi 48 anos e a média da ferritina foi 884,28µg/dL (DP=575,6). Pesquisa de HH foi realizada em 141 pacientes e 97(68,8%) apresentaram mutação, sendo 12(8,5%) C282Y/C282Y, 12(8,5%) C282Y/W, 13(9,2%) H63D/H63D, 38(27%) H63D/W, 13(9,2%) S65/S65, 13(9,2%) S65/W, 9(3,5%) C282Y/H63D - e 44(31,2%) negativo. Nessa casuística, HF se correlacionou com SF hepática (documentada por ressonância magnética- RM) ($p \leq 0,01$) e com mutação no gene *HFE* ($p=0,04$), especialmente em C282Y/C282Y ($p=0,03$). Ferritina >750µg/dL apresentou sensibilidade (SS)=85% e especificidade (EE)=51% para detectar SF na RM com mutação genética, com valor preditivo positivo (VPP)=40% e valor preditivo negativo (VPN)=90%, enquanto saturação de transferrina (ST)>50% isoladamente apresentou SS=73%, EE=51%, VPP=38% e VPN=31%. ST>50% associada a ferritina >1000µg/dL apresentou SS=83%, EE=66%, VPP=83% e VPN=66% para mutação C282Y ou H63D. No grupo que apresentou ferritina <1000µg/dL com ST <50% e pelo menos um dos seguintes fatores: esteatose hepática, dislipidemia, DM, HAS ou IMC ≥ 30, VPP para presença de mutação C282Y e/ou H63D foi de 53,8%. **Discussão:** ST isolada não parece ser um bom indicador de mutação *HFE*, pois SF pode estar presente em pacientes com HF e ST normal, particularmente em SF relacionada a heterozigotos, com maior especificidade se associada a ferritina >1000 µg/dL. Ferritina >750µg/dL demonstrou ser um bom indicador de presença de mutação com SF. A considerável associação entre mutação e fatores associados a SD pode ser explicada pela coexistência desses fatores ou pelo reduzido tamanho da amostra. **Conclusão:** Nós recomendamos *screening* com pesquisa de mutação em pacientes com ferritina >750µg/dL, uma vez que a baixa SS do rastreio por ST isoladamente impede a identificação de pacientes assintomáticos com SF que se beneficiariam do tratamento. Não houve associação significativa entre HF e SD. A presença de fatores relacionados a SD não foi suficiente para desestimular a investigação de mutação.

0114

Frequência de anemia e características hematimétricas em pacientes idosos atendidos no ambulatório de geriatria da faculdade de ciências médicas e da saúde da PUCSP

Silva AC, Pereira RC, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

A anemia é um importante problema clínico na população em geral, mas na população idosa se torna mais frequente e leva a importante morbidade, afetando sobremaneira a qualidade de vida dos pacientes, levando a expressivo aumento da mortalidade. Estudos populacionais demonstram que a prevalência de anemia após os 60 anos de idade varia de 10 até 30%. Há piora do desempenho nas atividades de vida diária e nos pacientes com distúrbios cardiovasculares há aumento da mortalidade. A anemia tem como

causas nesta população, perfazendo aproximadamente um terço cada uma delas, as seguintes: carências nutricionais como de ferro, ácido fólico e vitamina B12; doenças crônicas, como as neoplasias e doenças reumáticas; e por fim as anemias de causas inexplicáveis, dentre elas incluído-se as Síndromes mielodisplásicas. Realizamos um levantamento inicial, apenas com a coleta de hemogramas, objetivando conhecer a frequência de anemia em idosos atendidos no ambulatório de Geriatria da FCMS da PUC-SP. Avaliamos os hemogramas de 96 pacientes, sendo 38(39,6%) do sexo masculino e 58(60,4%) do sexo feminino. Do total de pacientes avaliados, 35 (36,5%) apresentavam anemia. A idade variou de 65 a 92 anos com média de 76 anos. No grupo de 65 a 70 anos a frequência de anemia foi de 44%, nos pacientes com 71 a 80 anos de 35,1% e nos pacientes com mais de 80 anos de 31,2%. Observamos no grupo de homens, 19(50%) pacientes com hemoglobina (Hb) abaixo de 13 g/dl. Destes, 15(78,9%) apresentavam Hb entre 10 e 12,9g/dl, 04(21,1%) entre 7 e 9,9g/dl e nenhum com menos de 6,9g/dl. A hemoglobina variou de 8,3 a 12,9g/dl com média de 10,99g/dl. O Volume Corpuscular Médio (VCM) variou de 81,77 a 98,07 fl, com média de 89,63fl. A hemoglobina corpuscular média (HCM) variou de 26,85 a 33,53 pg, com média de 29,86 pg. Todos os homens que apresentavam anemia, tinham anemias normocíticas e normocrômicas. Entre as mulheres encontramos uma menor, mas não menos expressiva frequência de anemia, ou seja, em 16(27,6%) pacientes. Destas, 15(93,8%) apresentavam Hb entre 10 e 11,9g/dl, 01(6,2%) entre 7 e 9,9g/dl e nenhuma com menos de 6,9g/dl. A hemoglobina variou de 8,9 a 11,9 com média de 11,3 g/dl. O VCM variou de 69,14 a 107,45fl com média de 86,5fl. Já o HCM variou de 20,52 a 36,55 pg. Observamos que 3/16(18,7%) apresentavam anemias microcíticas e hipocrômicas, 12(75%) normocítica e normocrômica e 1(6,3%) anemia macrocítica. Concluímos que a frequência observada foi muito elevada, acima do observado em estudos populacionais, sendo a maior parte dos casos de anemias leves a moderadas, e em sua maioria normocíticas e normocrômicas. Estas características sugerem anemias causadas por doenças crônicas. A alta frequência provavelmente decorre do fato de estarmos estudando não a população geral, mas sim, doentes atendidos em um hospital escola, terciário e cujos pacientes apresentam diversas comorbidades. A complementação deste estudo se dará com o levantamento de dados clínicos e laboratoriais que permitam que cheguemos aos mecanismos e causas de anemia nesta população.

0115

Anemia ferropriva e hábitos alimentares de crianças menores de 24 meses de uma unidade básica de saúde do município de Teresina, PI

Souza AS¹, Araújo MD², Silva NR², Marcos GC³, Brito IB³

¹ Universidade Estadual do Piauí – UESPI, Teresina, PI

² Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí – HEMOPI, Teresina, PI

³ Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina, PI

Introdução: A anemia ferropriva é a doença nutricional mais prevalente no mundo (Who, 2009), sobretudo na infância, constituindo-se um sério problema de Saúde Pública. As crianças constituem um dos grupos mais vulneráveis a anemia por deficiência de ferro, pois apresentam maior necessidade do mineral devido ao crescimento acelerado dos tecidos, que precisa de um aumento da série vermelha (Viera, 2010). Os lactantes fazem parte do grupo de risco para o desenvolvimento da anemia ferropriva devido à maior necessidade de ferro em função do crescimento acentuado dos tecidos. Pois anemia ferropriva é a forma mais severa de deficiência de ferro constituindo mais comum das deficiências nutricionais no mundo. **Objetivos:** Analisar os hábitos alimentares de crianças de 9 a 24 meses, assim como a ocorren-

cia de anemia ferropriva. **Métodos:** Trata-se de uma pesquisa descritiva de delineamento transversal que coletou informações das mães de 58 crianças que estavam em acompanhamento de puericultura na Unidade Básica de Saúde do Bairro Cidade Satélite em Teresina - PI. A coleta de dados ocorreu no mês de agosto e setembro de 2010, tendo como ferramenta de coleta um questionário aplicado para as mães que abordava questões sobre consumo alimentar. As informações sobre as crianças foram retiradas do cartão de acompanhamento utilizando os seguintes parâmetros: peso e estatura. A concentração de hemoglobina foi obtida através da leitura direta em fotômetro portátil HemoCue® do sangue coletado por punção digital. Foi considerada anemia a concentração de hemoglobina inferior a 11,0 g/dL. Foi utilizado o *software* Epi Info versão 6.0. Para estudar a relação entre as diversas variáveis independentes e cada uma das variáveis dependentes, utilizou-se o teste do qui-quadrado e o teste exato de Fisher. **Resultados e Discussão:** Das 58 crianças, 42 (72,4%) encontravam-se anêmicas, destes 19 (32,7%) apresentaram anemia na forma grave (9,5 g/dL). Observou-se a introdução precoce de água e chá nos primeiros meses de vida, apesar da OMS preconizar a sua introdução após os 6 meses de vida. Em relação aos alimentos fontes de ferro verifica-se que 8 (13,8%) introduziram tardiamente peixe, caldo de feijão e carnes, com ênfase a frequência baixa de crianças que já tinham introduzido o fígado. **Conclusão:** Na pesquisa foi observada alta prevalência de anemia, assim como introdução precoce de água, chá, leite e tardia dos alimentos fontes de ferro. Uma vez que a composição da dieta, e não a quantidade da alimentação é o elemento que parece condicionar a deficiência de ferro, por esta razão, ações de caráter educativo, devem ser adotadas, para se evitar que as crianças consumam alimentos pobres em nutrientes e substituam os alimentos de baixo valor nutricional por outros que possuam ser mais nutritivos. E que, as mães possam utilizar de criatividade para com as refeições das crianças no sentido de introduzir hábito de uma alimentação saudável no seu cotidiano. Devido à importância da alimentação adequada para o crescimento normal do indivíduo. Neste contexto compreende-se que estudos como esse é de grande valia para desenvolvimento e construção de estratégias para gerir hábitos alimentares mais completos e saudáveis.

0116

Prevalência de anemia em população idosa de um laboratório de análises clínicas em Aracaju, SE

Rezende DM, Souza IC, Neta RG

Universidade Tiradentes – UNIT, Aracaju, SE

A anemia em idosos tem se tornado um problema de saúde pública especialmente por associar-se a altas taxas de morbidade neste grupo etário. O objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de anemia em idosos, associando-a com gênero e faixas etárias no período de Dezembro de 2010 a Dezembro de 2011 em um Laboratório de Análises Clínicas da cidade de Aracaju, Sergipe. Os critérios adotados nesse trabalho estão de acordo com a OMS (Organização Mundial de Saúde), onde níveis de hemoglobina <13,0 g/dL em homens e <12 g/dL em mulheres caracterizam pacientes anêmicos. Foram analisados 1355 hemogramas de pacientes idosos, observando uma prevalência de anemia no gênero masculino (15,7%) em relação ao gênero feminino (11,2%). Quanto à faixa etária prevaleceu em ambos os gêneros a anemia entre 60-69 anos, com 53,3% no gênero feminino e 44,10% no gênero masculino. Fomentar maior quantidade de pesquisas direcionadas a esta faixa da população objetivando a melhoria da sua qualidade de vida ainda se faz necessário.

0117

Anemia ferropriva em crianças: uma questão de saúde pública

Souza AS¹, Araújo MD², Marcos GC³, Brito IB³, Silva NR²

¹ Universidade Estadual do Piauí – UESPI, Teresina, PI

² Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí – HEMOPI, Teresina, PI

³ Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina, PI

A anemia, uma condição em que a concentração de hemoglobina é menor que a normal, reflete a presença de menos eritrócitos que o normal na circulação. Em consequência disso, a quantidade de oxigênio liberada para os tecidos orgânicos também fica diminuída. Tipicamente, a anemia ferropriva resulta quando a ingestão de ferro na dieta é inadequada para a síntese de hemoglobina (BRUNNER & SUDDARTH, 2008). De acordo com o Ministério da Saúde (MS), dentre as anemias, encontra-se a anemia decorrente por deficiência de ferro denominada de anemia ferropriva. Depreende-se anemia ferropriva como uma condição médica comum e facilmente tratável, que ocorre quando a pessoa não tem ferro suficiente no organismo. Pois o baixo nível de ferro geralmente são decorrentes de perda de sangue, dieta pobre e incapacidade de absorver ferro suficiente dos alimentos. Segundo World Health Organization – WHO (2009) anemia ferropriva é a doença nutricional mais prevalente no mundo, sobretudo na infância, construindo-se um sério problema de saúde pública. Para Organização Mundial de Saúde (OMS), a anemia nutricional, é um estado em que às baixas concentrações de hemoglobina são uma consequência da deficiência de um ou mais nutrientes essenciais, por qualquer razão. Ainda a OMS estima que cerca da metade da população de crianças com menos de cinco anos de idade dos países em desenvolvimento exceto a China, sofre de anemia. A América Latina estima-se que a anemia afeta 30% das crianças em idade pré-escolar (Unicef, 2005). A anemia instala-se em consequência de perdas sanguíneas e/ou por deficiência prolongada da ingestão de ferro alimentar, principalmente em períodos de maior demanda, como crianças e adolescentes que apresentam acentuada velocidade de crescimento. Além disso, a gestação e lactação também são períodos de maior demanda de ferro. De acordo com a Organização Panamericana de Saúde (OPAS)/Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que, para cada pessoa com anemia, exista, ao menos, mais uma com deficiência de ferro. Assim, em uma população com 50% de crianças com anemia, como é o caso do Brasil, 100% de fato, são deficientes em ferro (BEARD, *Et al*, 1997). De acordo com alguns estudos a anemia ferropriva tem uma distribuição universal. E estima-se que 25% da população mundial é atingida pela carência de ferro, e os grupos populacionais mais atingidos são as crianças de 4 a 24 meses de idade, os escolares, as adolescentes do sexo feminino, as gestantes e as nutrizes (YIP R, 1992). Diante do exposto vimos observar que, o estudo aqui proposto é de cunho especulativo através de referências bibliográficas das mais importantes organizações (WHO, OPAS, UNICEF,) que gerencia a saúde no mundo, e preconizam que, as anemias principalmente a ferropriva têm uma distribuição universal. E está presente em todas as faixas etárias, independente de sexo, raça, classe sociais entre outras. O estudo foi elaborado com o intuito de contribuir no planejamento de estratégias de controle da anemia ferropriva pelos órgãos que compete o gerenciamento da saúde pública.

0118

Marcadores de maturidade reticulocitária em crianças com anemia ferropriva

Wollmann M¹, Gerzson BM², Schwert V³, Figuera RW³, Ritzel GO³, Nachtigal GC², Michel JO², Cordas GS², Duarte CR²

¹ Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC, Santa Cruz do Sul, RS

² Hemocentro Regional de Pelotas, Pelotas, RS

³ Universidade Luterana do Brasil - ULBRA, Canoas, RS

Introdução: A deficiência de ferro, apesar de ser uma das carências mais prevalentes no mundo e ter sua etiologia bastante conhecida, é um problema que ainda persiste, tanto nos países desenvolvidos, como naqueles em desenvolvimento. A anemia pode ser definida como a condição na qual o conteúdo de hemoglobina do sangue está abaixo dos valores considerados normais, de acordo com a idade e o sexo. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os níveis normais de hemoglobina para crianças com idade inferior a 6 anos devem ser superiores a 11g/dl. Devido a todos estes fatores, tem sido desenvolvidos esforços no sentido de disponibilizar novos parâmetros laboratoriais que permitam detectar e avaliar precocemente a deficiência de ferro, assim como identificar grupos populacionais de risco. Nos últimos anos a metodologia automatizada por citometria de fluxo para reticulócitos vem sendo incorporada na rotina laboratorial como alternativa ao método manual, disponibilizando também índices que avaliam o grau de maturidade dos reticulócitos, sendo classificados em 3 níveis: Reticulócitos com Baixa Maturidade (RETH%), Reticulócitos com Média Maturidade (RETM%) e Reticulócitos com Alta Maturidade (RETL%). **Objetivo:** Analisar os índices reticulocitários de maturidade (RETM, RETH, RETL) na anemia ferropriva em crianças de 1 a 6 anos e desta forma verificar a viabilidade do uso destes índices nos laudos laboratoriais. **Métodos:** Neste trabalho fizeram parte da pesquisa 39 indivíduos na faixa etária de 1 a 6 anos de idade, no período de agosto de 2009 a julho de 2010. A contagem automática dos reticulócitos foi processada no equipamento Sysmex XT 2000. **Resultados e Discussão:** Para analisarmos a possível relação dos índices reticulocitários RETM, RETH e RETL com a anemia ferropriva dividimos nossa amostra em dois grupos, controle e doente (com deficiência de ferro). Os indivíduos com anemia por deficiência de ferro apresentaram aumento na proporção de reticulócitos quando comparados com o grupo controle, com média fluorescência (10,3 ±4,7 vs 6,0 ±3,4 (controle), p=0,003), e alta (2,3 ±0,87 vs 0,9 ±0,9, (controle) p=0,03), diferença estatisticamente significativa. Os índices reticulocitários avaliados estão relacionados a quantidade de RNA dos reticulócitos e conseqüentemente ao grau de imaturidade dos mesmos, demonstrando dessa forma que na deficiência de ferro os reticulócitos imaturos encontram-se em maior quantidade no sangue periférico. Como a vida média dos eritrócitos é de cerca de 4 meses e a renovação diária da massa eritrocitária corresponde a 1% das hemácias circulantes, isso faz com que alterações nos índices hematimétricos nas anemias levem até semanas para serem detectadas, sendo que os índices reticulocitários podem ser marcadores mais precoces da deficiência de ferro e conseqüentemente da anemia. Mesmo com um número reduzido de indivíduos avaliados com anemia ferropriva, nossos Resultados conseguem demonstrar elevação nos valores dos índices MTR e HFR nos indivíduos com deficiência de ferro, quando comparados com indivíduos controle, sendo estatisticamente significativa. **Conclusão:** Os índices relacionados a imaturidade dos reticulócitos sofrem elevação na presença da deficiência de ferro, demonstrando assim a deficiência de matéria prima para formação da hemoglobina, sendo possíveis marcadores precoces da deficiência de ferro.

0119

Perfil clínico e laboratorial de pacientes com sobrecarga de ferro acompanhados em clínica privada

Prince MF¹, Mauad VA¹, Bordim RA¹, Bassit RP^{1,2}, Poblete NC¹, Vieira FC¹, Silva IV¹, Amaro NS¹, Borduchi DM^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina do ABC - FMABC, Sant'Andre, SP

² Central Clinic

Introdução: A sobrecarga de ferro (hemossiderose) ocorre basicamente por dois mecanismos: primária- alteração genética proteica relacionada ao metabolismo do Fe; secundária- aumento do catabolismo eritrocitário (suporte transfusional, anemias hereditárias). A hemocromatose hereditária clássica é a doença genética monoalélica mais frequente nos caucasianos, sendo decorrente das mutações: C282Y, H63D e S65C. **Objetivo:** Descrição epidemiológica dos casos de hemossideroses avaliados em um centro de hematologia da região do ABC. **MATERIAL E METODOS:** Trata-se de um estudo retrospectivo, realizado através do levantamento de prontuário de 205 pacientes com diagnóstico de hemossiderose/hemocromatose em serviço particular de hematologia da região do ABC, desses, 109 possuíam dados de perfil de ferro e pesquisa de mutação *HFE*, sendo esses os incluídos no estudo. **Resultados:** Dos 109 pacientes estudados, 67 eram do sexo masculino. A mediana de idade era de 48.5 ano. Foi verificado um valor médio de ferritina de 728.56 mcg/l (60 a 1500 mcg/l, DP=324.3). A presença de mutações foi observada em 52 casos, sendo 31 H36D/WT; 9 C282Y/WT; 8 C282Y/H36D; 3 H36D/H36D e 1 C282Y/C282Y. A análise de ferritina individualizada para a presença das mutações demonstrava valores médios de ferritina menores nos indivíduos mutados, com valor médio de 661.95 mcg/l. Analisando-se as mutações em separado, obtivemos C282Y/WT=618.55 mcg/l, DP=275.3; H36A/H36A=935 mcg/l, DP=232.25, DP; C282Y/C282Y=467 mcg/l*; C282Y/H 36A=560.12 mcg/l, DP=447; H36D/WT=680.67 mcg/l, DP=292.3. Quanto à causas associadas, usando-se do *Odds Ratio* (*HFE* mutado/selvagem) verificou-se: síndrome metabólica OR=0.366 IC95% 0.13-0.97; hemoglobinopatia OR=0.14 IC95% 0.008-1.35; Etilismo OR=0.72 IC95% 0.11-4.48; Doenças Crônicas OR=0.42 IC95% 0.19-0.93; hepatopatia OR=0.56 IC95% 0.21-1.95. **Conclusão:** A hiperferritinemia é motivo frequente de encaminhamento ao hematologista e deve ser investigada conforme protocolos institucionais. No Brasil pela miscigenação de nossa população observa-se uma peculiaridade na distribuição de frequência da mutação *HFE* e de sua relação com a sobrecarga de ferro.

0120

Causas de anemia no consultório do hematologista

Paula MT

Hospital Federal dos Servidores do Estado - HFSE, Rio de Janeiro, RJ

Objetivo: Descrever as causas mais comuns de anemia nos pacientes que procuram o consultório de hematologista para esclarecimento diagnóstico. **Métodos:** Avaliamos cem pacientes que procuraram o consultório privado de hematologista, localizado na cidade do Rio de Janeiro, no ano de 2010, para esclarecimento de anemia. Consideramos os valores de concentração de hemoglobina menores que 13 gdl para o sexo masculino, 12 gdl para mulheres e 11 gdl para crianças entre 6 meses e 6 anos. Foram excluídos os pacientes encaminhados com anemia de causa conhecida para tratamento hematológico. A investigação se baseou em história clínica, exame físico e exames laboratoriais. **Resultados:** Cinquenta e oito por cento dos pacientes tinham mais de 61 anos e a causa prevalente foi da anemia ferropriva (44 %). As doenças consideradas he-

matológicas benignas representaram 10% e as onco-hematológicas 6% (Síndrome Mielodisplásica: 2%, Síndrome Mieloproliferativa: 2%, Leucemia Linfóide Crônica: 2%, Mieloma Múltiplo: 1%). **Conclusão:** Este resultado vem corroborar os descritos na literatura que indicam que a deficiência de ferro é a causa mais comum de anemia em todo o mundo. Outro fato que merece observação é a anemia secundária a cirurgia bariátrica para tratamento da obesidade mórbida. A deficiência nutricional, principalmente do ferro, ácido fólico e vitamina B12 é a grande responsável pela anemia. Os idosos, com frequência, apresentam anemia sendo muitas vezes difícil identificar uma única causa devido a comorbidades, como má absorção dos nutrientes, Diabetes Mellitus, Insuficiência Renal Crônica e perda sanguínea discreta e persistente.

0121

Avaliação da anemia em pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise que realizam tratamento com eritropoetina e ferro endovenoso

Rosetti F¹, Gerzson BM^{1,2}

¹ Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC, Santa Cruz do Sul, RS
² Hemocentro Regional de Pelotas, Pelotas, RS

Introdução: Uma das principais complicações de elevada prevalência em pacientes com insuficiência renal crônica (IRC) é a anemia que afeta 60% a 80% dos pacientes, caracterizada pela diminuição do nível de hemoglobina abaixo de 11 g/dL. A base do tratamento da anemia consiste na administração de eritropoetina humana recombinante (rHuEPO) administrada por via subcutânea e a suplementação com ferro oral e endovenoso. A anemia em pacientes com IRC, tem como causa diversos fatores, o mais comum deles é a deficiência de eritropoetina. Outros fatores podem contribuir com a anemia do paciente com IRC, entre eles, deficiência de ferro, de vitamina B12, ácido fólico, perdas sanguíneas, hemólise e inflamação. **Objetivo:** Avaliar a concentração da Hemoglobina em pacientes com IRC, em tratamento com hemodiálise, (rHuEPO), ferro oral e endovenoso. **Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo transversal em pacientes hemodialisados em uso de eritropoetina e em tratamento com ferro oral e endovenoso, através da revisão dos prontuários dos pacientes atendidos no Serviço de Nefrologia do Hospital de Caridade e Beneficência (HCB) de Cachoeira do Sul/RS, no período de 2006 a 2010. No estudo foram incluídos 49 pacientes hemodialisados que utilizam o Serviço de Nefrologia do HCB e que estavam em uso de eritropoetina e também em tratamento com ferro nas duas vias de administração. **Resultados:** A média de Hemoglobina dos pacientes estudados foi de 9,8 ± 0,8 g/dL, o Hematócrito foi de 29,3 ± 2,5 %, a dosagem de Ferro sérico foi de 68 ± 18,4 g/dL, Ferritina de 558,4 ± 331 %, saturação da transferrina 32,2 ± 9,2 ng /mL, o tempo de diálise foi de 26,7 ± 9,4 meses de tratamento. Ao analisarmos as características dos pacientes estudados (n=48), observa-se que a média ±dp da Hb e Ht não alcançaram o alvo preconizado pelo Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas, que recomenda manter a hemoglobina entre 11 g/dL e 12 g/dL ou o hematócrito entre 33% a 36%, devendo ser o tratamento acompanhado da manutenção de adequados estoques de ferro. **Conclusão:** Neste estudo, os níveis alvo da hemoglobina e hematócrito não foram alcançados, apesar da reposição de ferro oral e endovenoso associado ao tratamento com a (rHuEPO). Na avaliação da ferritina sérica observamos que a média dos valores estava dentro dos valores esperados, porém não sendo suficiente para manter os níveis de ferro sérico e normalizar os valores da hemoglobina. Na ausência de uma causa para a resposta inadequada à ação da eritropoetina, sugere-se consulta hematológica e biópsia de medula óssea como último passo do processo para afastar a doença hematológica inesperada. A revisão dos protocolos administrados ao paciente renal, torna-se indispensável diante da necessidade de avaliação das doses de ferro

preconizados, assim como avaliar as possibilidades de resistência ao tratamento com eritropoetina. Visando, dessa forma, melhorar a qualidade de vida destes pacientes e estabelecer estratégias adequadas de tratamentos envolvidos no estabelecimento da anemia na insuficiência renal.

0122

Prevalência de anemia em pacientes atendidos no laboratório de análises clínicas de um hospital geriátrico no Rio de Janeiro

Saldanha JT¹, Eirnet D¹, Machareth S¹, Barros TM²

¹ Instituto Federal do Rio de Janeiro – IFRJ, Rio de Janeiro, RJ
² Hospital Municipal de Geriatria e Gerontologia Miguel Pedro – HMGGMP, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A partir dos anos 60 o Brasil iniciou um processo de envelhecimento populacional crescente devido, principalmente, a queda da mortalidade e fecundidade. Hoje há evidência de que a anemia no idoso é preocupante e aumenta vulnerabilidade para eventos adversos tanto em idosos internados quanto em residentes de comunidade. O objetivo deste trabalho foi analisar a prevalência de anemia em pacientes internados e ambulatoriais de um hospital de geriatria do Rio de Janeiro. **Métodos:** Foram analisadas as concentrações de Hb, VGM e CHGM dos hemogramas de 440 idosos >60 anos entre os meses de janeiro e fevereiro de 2012. Destes, 333 eram ambulatoriais e 108 internados. A coleta do sangue foi feita pela manhã por punção venosa e com os pacientes em jejum. Utilizou-se para a determinação dos índices hemantimétrico e hematócrito o equipamento KX21 SYSMEX. O critério utilizado para o diagnóstico de idosos anêmicos foi de Hb < 12g/dL para o sexo feminino e Hb < 13g/dL para o sexo masculino. **Resultados e Discussão:** A prevalência de anemia encontrada nos idosos foi de 51,82%(228/440). Destes, 54,55%(72/132) e 41,29%(83/201) eram respectivamente do sexo masculino e feminino e ambos do ambulatório. Dentre os internados, obteve-se 83,33% de homens (35/42) e 57,55%(38/66) de mulheres anêmicas. Dentre os homens atendidos no ambulatório houve uma prevalência de anemia macrocítica (92%). **Conclusão:** Foi encontrado uma alta prevalência de anemia nos pacientes do sexo masculino. Sabe-se que o sexo masculino tem sido descrito com maior vulnerabilidade a ferropenia, porém não se sabe ao certo as razões dessa maior fragilidade. Tem sido levantadas explicações de que essas ocorrências são devido a a ordem metodológica, traduzidas pelo pontos de corte mais baixos para o sexo feminino. Comparando com outras literaturas observou-se que a prevalência de anemia é bem alta e principalmente entre os internados, sugerindo que estas são devido a doenças crônicas.

DOENÇAS DA SÉRIE VERMELHA: ANEMIAS HEMOLÍTICAS

0123

Heterozigose composta entre HB S e HB E-Saskatoon no sul do Brasil: primeiro relato de caso

Couto GK¹, Macedo J², Weber C², Diedrich VR², Lorenzini PF², Pilger DA¹, Castro SM^{1,2}

¹ Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS
² Serviço de Rastreamento e Triagem Neonatal, Hospital Materno-infantil Presidente Vargas, Prefeitura Municipal de Porto Alegre, Porto Alegre, RS

As variantes de hemoglobinas (hb) são oriundas de diferenças moleculares que resultam em mudanças nas propriedades físicas, químicas ou funcionais da molécula. Nesse sentido, os programas de triagem neonatal, que objetivam a detecção de hemoglobinopatias têm um papel importante. Tem-se podido observar os benefícios tanto do diagnóstico ao nascimento quanto da intervenção precoce. Além disso, podem contribuir com uma diminuição na morbidade e mortalidade dos recém-nascidos (RN). Este relato de caso descreve o primeiro caso de heterozigose composta entre Hb S e Hb E-Saskatoon em um RN do sexo feminino, caucasóide, proveniente da região Sul do Brasil, identificada por HPLC, Focalização Isoelétrica (IEF), PCR e sequenciamento de DNA. **Relato de Caso:** RN foi encaminhada para triagem neonatal e mostrou alteração sugestiva de heterozigose composta entre Hb S e provável Hb E-Saskatoon pelas técnicas cromatográficas. Foi realizada avaliação conjunta dos pais e do irmão de 4 anos. O pai apresentou resultado do exame com Hb Variante (provável Hb E-saskatoon) e a mãe com heterozigose para Hb S, ambos assintomáticos. O irmão, o qual faz acompanhamento para anemia, também apresentou resultado sugestivo de heterozigose composta entre Hb S e provável Hb E-saskatoon. Ambos os irmãos apresentam quadro de anemia e estão realizando exames complementares para o diagnóstico diferencial. No único caso de heterozigose composta para Hb S e Hb E-saskatoon relatado na literatura a paciente não apresentou clínica de síndrome falciforme. Foi realizado PCR seguido de sequenciamento para o gene da *beta globina* que identificou a presença concomitante das alterações em heterozigose na posição 22 (GAA para AAA) e na posição 6 (GAG para GTG), características da hemoglobina E-saskatoon e hemoglobina S, respectivamente. Visto que a hemoglobina E-Saskatoon coelui com a Hb D no HPLC e próxima à Hb E na IEF, entende-se e justifica-se a necessidade da associação de testes laboratoriais, inclusive moleculares, nas rotinas laboratoriais para a correta identificação do perfil de hemoglobinas do indivíduo e real frequência na população brasileira. Até o presente momento, as duas crianças afetadas não apresentaram quadros característicos de anemia hemolítica, mas exames complementares estão sendo realizados para acompanhamento e análise do impacto desta combinação de hemoglobinas na clínica destes pacientes. Diante da diversidade de hemoglobinas variantes encontrada na população brasileira, um diagnóstico laboratorial preciso, capaz de elucidar possíveis interações entre estas variantes genéticas. O diagnóstico correto é essencial para a formulação do prognóstico, das estratégias de tratamento e aconselhamento genético.

0124

Anemia hemolítica autoimune idiopática com uso de rituximab

Riani LR, Maia CP, Sá DM, Queiroz VS, Moussa MP, Barbosa PF, Pimentel LF, Gustin EC, Santos FA, Junior RA

Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Uberlândia, MG

W.F.R., 33 anos, feminino, leucoderma, contadora, solteira, portadora de anemia hemolítica auto-imune idiopática por anticorpos quentes do tipo IgG, diagnosticada em 2006. Descartadas à época, em outro serviço, causas secundárias aparentes, tais como infecções virais, desordens auto-ímmunes, doenças linfoproliferativas, desordens de imunidade humoral ou celular, drogas, transfusão de sangue, transplante de células hematopoiéticas ou neoplasias. Tal anemia foi inicialmente tratada com glicocorticoides, na dose de 1mg/kg, com bom controle de doença. Entretanto, após longo período de controle adequado de doença, a paciente evoluiu com doença refratária ao tratamento, optando-se por esplenectomia, realizada há aproximadamente 1 ano e 6 meses, com boa resposta inicial. Há cerca de 8 meses apresentou piora progressiva dos níveis hematimétricos, acompanhados de reticulocitose,

hiperbilirrubinemia indireta, elevação de lactato desidrogenase, coombs direto positivo e redução de haptoglobina, caracterizando nova atividade de doença. Realizou-se terapia com imunoglobulina monoclonal, seguida de pulsoterapia com metilprednisolona, e de dose de manutenção com glicocorticóides orais (prednisona 1mg/kg), ambas sem resposta terapêutica. Iniciou-se, então, tratamento com azatioprina via oral, em doses máximas recomendadas (150mg/dia), sem resposta após 4 meses. Para descartar a possibilidade de anemia hemolítica auto-imune secundária, a paciente foi internada no serviço de Medicina Interna do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, procedendo-se a triagem de causas neoplásicas e de doenças auto-ímmunes através de tomografia de tórax, abdome, pelve e região cervical, e da coleta de perfil de auto-anticorpos, além das sorologias para doenças virais e cintilografia de fígado e baço para avaliar evidências de baço acessório. Toda triagem não evidenciou qualquer etiologia para a anemia hemolítica. Optou-se, então, pelo uso do anticorpo monoclonal anti-Cd20 Rituximab na dose de 375mg/m² nos dias 1, 8, 15 e 22, por 4 doses. Manteve-se a dose de 1 mg/kg de prednisona durante a primeira semana de uso de Rituximab, reduzindo-se posteriormente para 0, 5mg/kg nas semanas subsequentes. Atualmente, a paciente encontra-se em *follow-up*, com níveis estáveis de hematócrito e hemoglobina, sem sinais de reticulocitose e em redução progressiva da corticoterapia. A anemia hemolítica auto-imune por anticorpos quentes é na maioria das vezes anticorpos IgG que reagem com antígenos das superfícies das hemácias à temperatura corporal. Respondem, geralmente ao tratamento com esteroides, porém, muitos tornam-se dependentes dos mesmos e outros podem requerer tratamentos de segunda linha. Esplenectomia permanece como a mais efetiva e a melhor terapia de segunda linha avaliada, porém tem dados limitados quanto à sua eficácia à longo prazo e efeitos adversos. O anticorpo monoclonal anti-Cd20 Rituximab é uma outra opção à terapia de segunda linha com eficácia documentada à curto prazo, mas com informações limitadas quanto à sua eficácia à longo prazo e efeitos colaterais. Os efeitos de imunossupressores são pobremente avaliados. As causas mais comuns de anemia hemolítica secundária são malignidades, doenças auto-ímmunes ou drogas. Podem ser tratadas da mesma forma que as anemias hemolíticas primárias, com imunossupressores ou com o tratamento da doença de base.

0125

Arginina associada a hidroxúria para o tratamento da anemia falciforme

Elias DB¹, Goncalves RP², Rocha LB¹, Barbosa MC³, Dutra LL⁴, Sousa GF⁵, Carvalho TM², Martins AM², Silva HF⁶, Pedrosa AM³

¹ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

² Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

³ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

⁴ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

⁵ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

⁶ Hemocentro do Estado do Ceará – HOMOCE, Fortaleza, CE

A anemia falciforme (AF) é uma doença hereditária da síntese de hemoglobina determinada pela homozigose da hemoglobina S (HbSS), caracterizada por crises de vaso-oclusão recorrentes, estado inflamatório crônico, hemólise crônica e vasculopatia progressiva com consequente desequilíbrio na sinalização mediada pelo óxido nítrico (NO). O NO é um potente vasodilatador que atua impedindo a adesão dos leucócitos ao endotélio, inibindo a expressão de moléculas de adesão, atuando como uma substância anti-inflamatória. Estudos enfatizam o papel do óxido nítrico como um componente importante na fisiopatologia da anemia falciforme. Na AF a arginase, enzima presente no interior da hemácia, é liberada durante o processo de hemólise, catalisando a hidrólise de L-arginina, substrato para a produção de NO em ornitina e uréia, redu-

zindo a biodisponibilidade de NO. A diminuição de L-arginina, também ocorre devido a um aumento do consumo de NO em razão ao aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs), gerado pela presença de hemoglobina livre, injúria isquêmica de reperfusão recorrentes, estado pró-inflamatório e da elevada autoxidação da hemoglobina S (HbS). A HU é um agente citotóxico, mutagênico, recombinogênico e antineoplásico. Tem sido utilizada no tratamento da AF por aumentar a síntese da HbF e da hemoglobina total e reduzir a hemólise. A HU atua também na redução da expressão de moléculas de adesão, com propriedades anti-inflamatória e anti-agregante contribuindo para a diminuição das crises vaso-oclusivas, reduzindo a necessidade de transfusões sanguíneas, a frequência de hospitalizações e a mortalidade. Estudos atribuem ainda, a HU, uma ação no metabolismo do NO, aumentando a produção do mesmo, via ciclo da GMPC e consequentemente aumento da HbF. A terapia com HU aumenta a utilização do substrato arginina, para produção de NO pela atividade de NOS. A L-arginina, é um aminoácido semi-essencial, substrato para enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOS_e) para a produção de NO, estando reduzida em portadores de AF limitando a eficácia da HU. A biodisponibilidade reduzida da arginina global, mensurada por baixos níveis plasmáticos de L-arginina ou L-ornitina ou L-ornitina e L-citrulina, está associada com o aumento da mortalidade em pacientes com AF. O presente estudo teve como objetivo avaliar uma proposta terapêutica para o tratamento da AF, incluindo a suplementação com a L-arginina como um fármaco co-adjuvante ao tratamento com a HU. Trata-se de um ensaio clínico com 23 pacientes com diagnóstico molecular de AF, estratificados no Grupo I (utilizando somente HU) e II (utilizando HU+L-arginina), sendo este último monitorado por diferentes momentos de tratamento (0, 4, 8 e 12 semanas). A concentração de HbF foi obtida por HPLC, os parâmetros hematológicos foram determinados por método automatizado e a contagem de reticulócitos foi realizada por método manual. As determinações séricas de nitrito (NO₂⁻) e os parâmetros bioquímicos (LDH, Ur, Cr, TGO e TGP) foram realizados por Métodos espectrofotométricos. Os pacientes tratados com HU+L-arginina apresentaram aumento significativo dos níveis de nitrito, HbF e reticulócitos, após 12 semanas de tratamento comparados aos demais grupos. Os Resultados demonstram que a suplementação da L-arginina aumentou a biodisponibilidade do óxido nítrico podendo ser utilizada como fármaco coadjuvante ao protocolo terapêutico da AF.

0126

Resultados do doppler transcraniano de adolescentes e crianças com doença falciforme do Estado do Amapá

Castelo NM¹, Nascimento RE¹, Souza LC², Rodrigues AS¹

¹ Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, Macapá, AP

² Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá – HEMOAP, Macapá, AP

Introdução: O doppler transcraniano (DTC) é um método ultrassônico que usa pulsos entre 1 e 2 MHz os quais possam penetrar no crânio. É considerado um método de baixo custo, com grandes efeitos positivos na busca de alterações da velocidade do fluxo sanguíneo nas artérias localizadas na janela temporal do crânio, podendo desta forma, encaminhar um paciente com doença falciforme que apresente velocidade anormal ao regime de transfusão periódica com intuito de evitar um Acidente Vascular Encefálico (AVE). **Objetivo:** Descrever os Resultados do DTC realizado em crianças e adolescentes com doença falciforme do Estado do Amapá, durante os meses de Março e Maio de 2012. **Métodos:** Foram analisados os Resultados do DTC de 21 pessoas com doença falciforme, com idades entre 03 anos a 17 anos, realizou-se os exames segundo o protocolo do estudo STOP, utilizando-se o DTC com sonda de 2 MHz, circulação anterior avaliada através da janela transtempo-

ral; crianças que apresentaram velocidade média máxima (VMM) do fluxo sanguíneo cerebral < 170cm/s nas artérias cerebral média, carótida interna distal foram classificadas como normal; se VMM entre 170 – 199 cm/s classificou-se como condicional; VMM ≥ 200 cm/s considerou-se anormal. **Resultados:** Dos 21 pacientes que foram submetidos ao DTC, 12 (57,1%) apresentaram fluxo normal, 06 (28,6%) apresentaram fluxo anormal, 02 (9,5%) foram classificadas como condicional e 01 (4,8%) teve resultado inconclusivo. **Conclusão:** Os 28,6% pacientes que tiveram VMM anormal foram encaminhados conforme protocolo do Ministério da Saúde, para o regime de transfusão crônica, devido ao risco elevado de serem acometidos por um AVE. Observa-se então, elevada incidência de alteração de VMM em crianças e adolescentes com risco de AVE, diferente dos Resultados encontrados em outros estados brasileiros onde a incidência varia de 5% a 10%; o resultado inconclusivo foi devido à janela óssea ser inadequada. Assim, percebe-se quão é importante à realização do DTC, pois este auxilia na prevenção de AVE, uma das complicações neurológicas mais frequentes em crianças com doença falciforme e que provoca limitações tanto no aspecto físico quanto psicossocial, portanto, é de extrema importância realizar anualmente este diagnóstico para possibilitar uma melhor qualidade de vida a essas pessoas.

0127

Perfil das pessoas com doença falciforme do Estado do Amapá

Nascimento RE¹, Castelo NM¹, Souza LC², Rodrigues AS¹

¹ Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, Macapá, AP

² Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá – HEMOAP, Macapá, AP

Introdução: A doença falciforme é a hemoglobinopatia de maior prevalência no Brasil, constituindo-se como expressivo problema de saúde pública tanto pelos fatores epidemiológicos quanto pela gravidade e diversidade dos sinais e sintomas, provocando limitações com graves consequências, especialmente nos aspectos físicos e psicossociais. A partir destas características, torna-se importante conhecer os aspectos clínicos e epidemiológicos das pessoas com doença falciforme, sobretudo no Estado do Amapá, que apresenta significativa prevalência de casos com pouca divulgação para a sociedade. **Objetivo:** Descrever o perfil de pessoas com doença falciforme atendidas no instituto de hematologia e hemoterapia do Amapá (Hemoap). **Métodos:** Esta foi uma pesquisa retrospectiva de caráter quantitativo, realizada a partir da coleta de dados clínicos e sociodemográficos obtidos por meio dos prontuários de 75 pessoas com doença falciforme, durante o período de Junho a Julho de 2012. **Resultados:** Dos 75 pacientes com doença falciforme, 41 (54,7%) são do gênero masculino, 34 (45,3%) feminino; 72 (96%) pacientes HbSS e 03 (4,0%) Sβtal.; a idade variou entre 03 a 41 anos, com média 17,2 (desvio padrão 8,8), distribuída em: 6 meses - 10 anos: 12 (16,0%) pacientes; 11 anos – 20 anos: 37 (49,3%) pacientes; 21 – 30: 19 (25,3%) pacientes; 31 – 40: 05 (6,7%) pacientes; 41 – 50: 02 (2,7%) pacientes. Verificou-se que 21 (28,0%) apresentaram 0-2 crises algicas por ano, 36 (48,0%) tiveram 2-4 crises e 18 (24,0%) com 4-6 crises algicas por ano; houve 34 (45,3%) com infecções recorrentes; frequência de internações por ano: 35 (46,7%) pacientes tiveram 0-2 internações, 29 (38,7%) tiveram 2-4 internações e 08 (10,7%) tiveram 4-6 internações. 09 (12,0%) pacientes tiveram litíase biliar; 10 (13,3%) foram colecistectomizados; 08 (10,7%) pacientes com cardiopatia. Sobre doenças infectocontagiosas, 02 (2,7%) pacientes têm sorologia positiva para HTLV I/II; 01 (1,3%) paciente para HCV; 01 (1,3%) para HBV e 04 (5,3%) tiveram para hepatite A; 01 (1,3%) paciente contraiu malária. Priapismo manifestou-se em 05 (6,7%) pacientes; AVE em 12 (16,0%) pacientes; osteonecrose em 02 (2,7%) pacientes; cefaleia recorrente em 16 (21,3%) pa-

cientes; hepatomegalia em 21 (28,0%) pacientes. 03 (4,0%) foram esplenectomizados. Estão em regime de transfusão crônica 13 (17,3%) pacientes; 40 (53,3%) estão usando hidroxiureia; 02 (2,7%) quelante de ferro e 69 (92,0%) usam ácido fólico. Nenhum paciente apresentou úlcera de membros superiores e inferiores. **Conclusão:** Verifica-se um aumento na incidência de doença falciforme nas últimas duas décadas, devido principalmente aos avanços no diagnóstico clínico e laboratorial. Contudo, o Estado do Amapá ainda não possui um programa de aconselhamento genético a ser realizado em pessoas com a doença e traço falciforme (HbAS), bem como a segunda fase do teste de triagem neonatal, tornando-se preocupante, pois estes programas são prioridades para possibilitar melhorias na qualidade de vida destas pessoas. Outra observação é a ausência de úlceras de membros em pacientes com doença falciforme no Amapá, situação contrária ao que se observa em outros Estados brasileiros que possuem frequência de 8 a 10%. Foi visto também uma elevada incidência de AVE (16%), acima da encontrada em outros estudos que fica entre 5 a 10% dos pacientes.

0128

Elaboração do kit do auto cuidado no tratamento da doença falciforme

Queiroz AM, Serra DX, Nascimento EM, Lobo CL, Carvalho EM

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: É visível a preocupação dos grupos de atendimento multiprofissional institucional, no que se refere ao aspecto educativo na abordagem do tratamento. Muitos esforços são realizados para que as orientações e disseminação de informações alcancem todos os pacientes, visando favorecer a adesão e consequentemente reduzir a incidência das complicações secundárias à doença de base. Vários projetos sobre aderência às medicações como hidroxiurea e quelante de ferro foram realizados, mas ainda temos 60% de não aderência completa aos tratamentos propostos, havendo a necessidade de ações educativas contínuas. Alguns estudos demonstram alterações de déficit de atenção e de memória em alguns pacientes com doença falciforme, o que explica, mas não justifica este percentual grande de não aderência, apesar dos esforços. Portanto, idealizou-se um *kit* de auto cuidado, que é uma pasta pequena de elástico, o imã do hospital sem dor, o manual da doença falciforme, a carteirinha da dor, e os seguintes *folders*: 1-Orientações sobre o tratamento da hidroxiurea. 2-Orientações sobre Dengue. 3- Orientações da realização do curativo em domicílio. **Objetivo:** Este estudo visa avaliar a receptividade da distribuição do *kit* de autocuidado aos pacientes com Doença Falciforme. **Métodos:** A população deste estudo foram todos os pacientes que estão matriculados no HEMORIO com doença falciforme de 14 a 65 anos e que frequentam as consultas ambulatoriais, sem distinção de sexo, que estejam em tratamento com hidroxiureia, quelante de ferro, analgesia domiciliar ou simplesmente o ácido fólico. Local desenvolvido: No ambulatório, nas consultas de enfermagem de acordo com a disponibilidade da agenda do ambulatório aonde foi colocado um banner do *kit*. Os pacientes foram encaminhados pelo médico assistente através de um parecer no qual foi orientado qual o tipo de abordagem que deveria ser priorizado na consulta da enfermagem, tais como: Abordagem de aderência ao uso de hidroxiuréia, quelante de ferro, Orientação do tratamento da dor no domicílio, Orientações para o adolescente, Durante a consulta da enfermagem foi entregue o “*kit* de autocuidado.” No final foi realizado uma abordagem quantitativa das orientações específicas. **Resultados:** Foram avaliados 180 pacientes com doença falciforme. Todos os pacientes manifestaram 100% de receptividade pelo *kit*. Nenhum dos pacientes se dirigiu ao UPA para atendimento de dengue. 54% foram com consultas de aderência a hidroxiurea, 4% foram com

consultas de aderência ao desferasirox, 7% foram consultas de aderência a ambos o desferasirox e a hidroxiurea, 35% foram consultas de orientação sobre o tratamento da dor domiciliar aos adolescentes. **Conclusão:** A boa receptividade ao *kit* de autocuidado permitiu que o material educativo fosse bem trabalhado com os pacientes, sendo mais um instrumento para colaborar com a aderência aos tratamentos com hidroxiuréia, desferasirox e da terapêutica para dor no domicílio na doença falciforme. Futuramente, será medido o impacto das ações sobre a aderência e auto cuidado soa mesmos pacientes.

0129

Projeto de entretenimento na doença falciforme

Queiroz AM, Serra DX, Carvalho EM, Lobo CL, Lima AF, Neumann LJ

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A abordagem coletiva de um grupo de clientes oportuniza uma visão holística possibilitando maior abrangência e êxito nas ações implementadas. Identificar os múltiplos aspectos da doença e da relação do cliente com a mesma estimulá-lo e instrumentalizá-lo com informações constituem os Objetivos do trabalho que planejamos iniciar. A abordagem de um paciente com doença crônica como a doença falciforme, muitas vezes se torna difícil, a quebra da realização durante a consulta de uma palavra cruzada possibilita uma abordagem diferente com uma renovação do aprendizado do tratamento. As constantes reclamações em relação ao tempo de espera das consultas médicas e as vezes a falta de lugar para esta espera, torna-se fundamental o desenvolvimento de técnicas para uma melhor utilização deste tempo de espera, neste projeto temos como proposta a realização de palavras cruzadas em que o foco principal será as medicações utilizadas, desferasirox e hidroxiureia. A necessidade de inserção no processo de tratamento é fundamental, a educação continuada sobre as medicações utilizadas faz parte deste processo que se torna válido na sua continuidade. O Objetivo deste estudo foi avaliar o grau de entendimento do paciente em relação ao instrumento de entretenimento utilizado **Métodos:** Trata-se de um projeto de entretenimento, durante o tempo de espera da consulta. Tendo como *público-alvo: pacientes com doença falciforme de 16 a 65 anos, que frequentam o ambulatório de Doenças Hereditárias Hemolíticas no HEMORIO.* As palavras cruzadas foram distribuídas pela recepcionista no mesmo momento que recebiam as senhas de atendimento para consulta medica, com a orientação da realização da palavra cruzada durante o tempo de espera. Após foi realizado uma abordagem quantitativa da escolaridade dos pacientes. **Resultados:** 105 pacientes com doença falciforme, realizaram as palavras cruzadas, no tempo de espera da consulta da medica assistente

pacientes	
feminino	55
masculino	50
iletrados	4%
primeiro grau incompleto	36%
primeiro grau completo	16%
segundo grau incompleto	13%
segundo grau completo	16%
superior incompleto	7%
superior completo	8%

A partir destes dados foram levantados o grau de escolaridade dos pacientes com doença falciforme numa população de 3068

Fundamental incompleto	2326
Médio completo	253
Fundamental completo	214
Médio incompleto	177
Superior incompleto	45
Superior completo	38
Analfabeto	15

Conclusão: A baixa escolaridade dos pacientes com doença falciforme é um fator agravante na compreensão do seu tratamento. É fundamental para o sucesso terapêutico que os pacientes sejam encaminhados para melhora desta escolaridade, fato este já proposto pelo projeto Dor Social, já que a inclusão social fica muito difícil sem escolaridade. Gestão do tempo com um projeto de entretenimento, trouxe ferramentas gerenciais importantes a nossa terapêutica

0130

Analysis of gene expression of *PCBP1*, *PCBP2*, *HNRNPD* and *HNRNPK* and its relationship with alpha and beta thalassemia

Silveira TR¹, Mascarenhas CD², Brugnerotto AF², Duarte AS², Costa FF², Malavazi I¹, Cunha AF¹

¹ Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP

² Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

mRNA turnover is an essential regulatory element of gene expression and is strongly influenced by ribonucleoprotein (RNP) complexes which form on the mRNAs. Studies of human alpha globin mRNA stability have shown a specific RNA complex formed at the 3'untranslated region of the mRNA thought to regulate the erythrocyte specific accumulation of alpha globin transcript. Poly(C) binding activity is one of the protein activities of this multiprotein complex which consists of two proteins: *PCBP1* and *PCBP2*. Recent studies have identified a second group of protein which is also part of this complex. These proteins are known as *HNRNPDs* and are also involved in mRNA decay regulated by rich adenine and uracil regions (AREs). In a recent study of global gene expression in cells of beta thalassemic patients we have found *PCBP2* and *HNRNPK* genes as differentially expressed when compared to controls suggesting a possible regulatory role of these genes in this disease. As the encoded proteins by *PCBP1*, *PCBP2* and *HNRNPD* are part of the complex mentioned above, we assessed the expression of these genes in reticulocytes of beta thalassemic patients and compared its expression with healthy controls using Real Time RT-PCR (qPCR). Our findings showed a decrease in the expression of *PCBP2* and an increase in *HNRNPK* expression. No differences were observed in the expression of *PCBP1* and analyses about *HNRNPD* expression are in progress. Since *HNRNPK* protein seems to bind to *PCBP2* promoter as an activator factor, we are evaluating the occurrence of polymorphisms or mutations in such region that could be linked to a *HNRNPK* binding potential hence regulating *PCBP2* expression. Using RNA interference technique (RNAi) *PCBP2* was inhibited in cell culture of erythroleucemic cells K652 and qPCR analysis showed inhibition levels of 85%. Additionally, western blotting analyses demonstrated the production of *PCBP2* protein only in control cells. In order to evaluate the correlation between *PCBP2* inhibition and hemoglobin production, analyses of gene and protein expression of alpha, beta and gamma globin will be held in this cell type after stimulating for differentiation with erythropoietin. These findings significantly can help in the identification of molecular targets of this alpha complex as well as to expand the understanding of the role played by such complex regarding the molecular mechanisms of these disorders.

0131

Impacto da sobrecarga de ferro nos níveis de il-10 e nos parâmetros bioquímicos em pacientes com anemia falciforme

Goncalves RP, Barbosa MC, Santos TE, Arruda AB, Souza IP, Souza GF, Assis LC, Elias DB, Santos TN, Freitas MV

Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

A transfusão de hemácias desempenha um papel importante no tratamento de complicações agudas e crônicas da anemia falciforme (AF). No entanto, as transfusões frequentes podem levar a uma sobrecarga de ferro (SF). Como um resultado do excesso de ferro livre há produção de espécies reativas de oxigênio e ativação de monócitos e de inflamação. O objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto da sobrecarga de ferro sobre os níveis de *IL-10* e parâmetros bioquímicos em pacientes com AF. Participaram do estudo 30 pacientes com diagnóstico molecular da AF. Os pacientes foram estratificados em dois grupos, de acordo com a presença de SF, AF + SF (n = 15) e AF (n = 15). A análise bioquímica foi realizada em analisador automático Wiener CM 200. A dosagem de *IL-10* foi realizada por ensaio imunoenzimático de captura, usando o *kit* BDOptEIA™. A análise bioquímica revelou uma elevação significativa nos níveis de ácido úrico, triglicérides, VLDL, ALT, LDH, uréia e creatinina no grupo AF + SF em relação ao grupo AF, e uma diminuição nos níveis de HDL, LDL e VLDL (p <0,05). Os níveis de ferritina se correlacionaram positivamente com os níveis de ácido úrico (p <0,05). Em relação aos níveis de *IL-10*, o grupo AF + SF apresentou níveis significativamente reduzidos desta citocina em relação ao grupo AF. Os pacientes com SF mostraram uma redução dos níveis de *IL-10*, o que pode estar associado a níveis elevados de ácido úrico, um marcador da inflamação e dano renal em pacientes com AF. Os Resultados deste estudo são relevantes para o desenvolvimento de estudos mais consistentes que avaliam o efeito da SF no perfil inflamatório dos pacientes com AF. **Apoio financeiro:** FUNCAP

0132

Papel da sobrecarga de ferro nos parâmetros de estresse oxidativo em pacientes com anemia falciforme em Fortaleza, CE

Goncalves RP, Santos TE, Barbosa MC, Sousa GF, Arruda AB, Souza IP, Lemos VP, Laurentino MR, Filho PAM, Carvalho TM
Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

A anemia falciforme [AF] é uma doença genética causada por uma mutação pontual no gene da cadeia globínica beta. Como resultado uma hemoglobina alterada, a HbS, é produzida. A instabilidade e baixa solubilidade da HbS favorecem sua auto oxidação e polimerização, com consequente formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROS e ERNs), que contribuem com a hemólise intra e extra vascular. A terapia transfusional é uma ferramenta terapêutica empregada em vários pacientes com AF para controle da anemia resultante da hemólise. Entretanto, quando realizada repetidamente aumenta o risco de sobrecarga de ferro [SF]. O ferro em excesso atua como catalisador nas reações de formação de [EROs] e [ERNs], capazes de oxidar macromoléculas, como os lipídios e DNA, causando danos aos órgãos. O estudo teve como objetivo avaliar o perfil oxidativo de pacientes adultos com anemia falciforme acompanhados no Serviço de Hematologia de um hospital universitário, e sua associação com a sobrecarga do ferro (SF) decorrente da terapia transfusional. Foi realizado um estudo transversal, no período de junho de 2010 a junho de 2011, com 15 pacientes com AF sem SF [grupo 1], e 15 pacientes com AF e SF [grupo 2], além de 30 doadores voluntários para compor

o grupo controle. Foi considerado com SF pacientes com níveis de ferritina sérica ≥ 1.000 ng/mL. Dados epidemiológicos e laboratoriais foram coletados através do prontuário. Amostras sanguíneas foram colhidas para análise do estresse oxidativo. O perfil oxidativo foi avaliado por meio da dosagem dos níveis plasmáticos de malonaldeído (MDA), nitrito e nitratos (NOx) e atividade eritrocitária da catalase. A análise dos dados foi feita com o programa GraphPadPrism 5.0 com nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Observou-se predominância do sexo feminino e da etnia parda nos dois grupos. A média de idade dos pacientes foi 37 anos (grupo 1) e 40 anos (grupo 2). Não houve diferenças significativas no perfil hematológico e do ferro nos dois grupos. Foi observada anemia de grau moderado na maioria dos pacientes. Os parâmetros de estresse oxidativo MDA e nitrito mostraram-se elevados no grupo 2 em comparação ao grupo 1 e controles ($p < 0,001$ para MDA e nitrito) e redução na atividade da catalase nos pacientes do grupo 2 em relação ao grupo 1 e ao grupo saudável, com significância estatística ($p < 0,001$). Houve ainda uma correlação positiva entre ferritina e os parâmetros do MDA ($p < 0,02$, $r = 0,40$) e nitrito ($r = 0,359$, $p = 0,023$). Os Resultados sugerem a possibilidade de uma associação entre a sobrecarga de ferro e um aumento no estado hiperoxidativo em pacientes com anemia falciforme. **Apoio financeiro:** Funcap

0133

Estudo molecular e sua correlação clínica em pacientes adultos com anemia falciforme, em Fortaleza, CE

Gonalves RP¹, Dutra LL¹, Vasconcelos TD¹, Barbosa MC¹, Arruda AB¹, Souza IP¹, Machado RP², Santos TE¹, Ponte MF¹, Rocha MB¹

¹ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

² Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE, Fortaleza, CE

Anemia falciforme (AF) é a denominação usada para caracterizar uma doença causada pela presença de hemoglobina S (HbS) em homozigose. A doença apresenta manifestações clínicas heterogêneas, que podem ser relacionadas ao tipo do haplótipo associado ao gene da HbS. O estudo teve como objetivo determinar o perfil molecular e sua correlação a clínica, em pacientes adultos com anemia falciforme em acompanhamento no ambulatório de um hospital de referência. Trata-se de um estudo transversal que avaliou pacientes adultos, de ambos os sexos, portadores de anemia falciforme. Os dados clínicos e laboratoriais foram obtidos a partir de prontuários. O perfil clínico foi estratificado de acordo com a severidade da doença. A confirmação do diagnóstico molecular e a determinação dos haplótipos foram realizadas através da reação em cadeia mediada pela polimerase para polimorfismo dos comprimentos dos fragmentos de restrição (PCR-RFLP). Considerou-se significativo valor de $p < 0,05$. Um total de 106 pacientes foi avaliado, com idade variando de 20 a 65 anos. A média das idades foi de 36 anos. A maioria foi do sexo feminino. A maior parte dos pacientes tinha doença de grau leve. A maioria dos cromossomos dos haplótipos foi de Bantu (62,64%), seguido de Benin (25,47%). A maior parte dos pacientes apresentava doença de severidade leve, os níveis de HbF foram maiores no sexo masculino. Observou-se relação da severidade da doença com o aumento da taxa de reticulócitos e com a diminuição da concentração de hemoglobina fetal (HbF). Os valores de CHCM apresentaram-se mais elevados em pacientes com grau moderado da doença. Conclui-se que a maior prevalência foi do haplótipo Bantu e que os portadores desse polimorfismo apresentam um quadro clínico mais severo, demonstrado pelos parâmetros hematológicos.

Apoio financeiro: FUNCAP; PIBIC-CNPq

0134

Comparação entre dois protocolos de tratamento da dor aguda em pacientes com hemoglobinopatia atendidos no setor de emergência do Instituto Estadual de Hematologia Artur Siqueira Cavalcanti

Campos JS, Queiroz AM, Lobo CL

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A crise de falcização vaso-oclusiva é a complicação mais frequentemente observada nos portadores de hemoglobinopatias, sendo responsável pela maioria dos casos de hospitalização desses indivíduos. Existe um esforço para a implementação de protocolos para o tratamento dos quadros álgicos, no entanto devendo-se manter a vigilância para evitar uma possível dependência física e/ou psíquica destes pacientes em relação aos medicamentos opióides utilizados. **Objetivo:** Comparar dois protocolos diferentes para tratamento da crise álgica em pacientes com hemoglobinopatia atendidos nos anos de 2010 e 2011. **Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo com base na análise de prontuários de pacientes com hemoglobinopatia atendidos no setor de emergência nos anos de 2010 e 2011. Os pacientes foram randomizados em dois grupos de acordo com o ano de atendimento. Os pacientes atendidos em 2010 foram submetidos ao protocolo constituído de morfina parenteral em dose plena. Após 48 horas de tratamento venoso, era iniciada morfina por via oral dose equianalgésica. Nos paciente atendidos em 2011 foi utilizado o protocolo com a primeira dose de morfina venosa seguida de doses equianalgésicas de morfina oral subsequentes. O critério utilizado para mensuração da intensidade da dor foi a escala analógica da dor. Foram levantados os números referentes a EAD da admissão, 24 e 48 horas da internação hospitalar. **Resultados:** Analisamos 172 prontuários no mês de março de 2010 e 162 prontuários no mês de março de 2011 o que representou 105 crises álgicas de cada ano. Em relação ao tempo de permanência no setor de emergência houve diferença significativa comparando os dois grupos. Em 2010 o número de pacientes que permaneceu menos de 24 horas no setor foram 63 comparados a 79 pacientes em 2011. Os que permaneceram entre 24-48 horas foram 16 em 2010 comparados a 8 em 2011 e, aqueles que permaneceram mais que 48 horas foram 26 pacientes em 2010 e apenas 18 em 2011. Avaliando a EAD inicial com a EAD após 24 horas de permanência na emergência, observamos que em 2010 apenas 26 pacientes zeraram sua dor (EAD=0). Já em 2011 este número foi de 50 pacientes. Os que obtiveram queda de 50% da EAD nas primeiras 24 horas também elevaram de 31 em 2010 para 44 em 2011. As complicações relacionadas ao tempo de permanência de mais de 48 horas no setor de emergência não mostrou diferença estatística significativa. **Conclusão:** O novo protocolo proposto para tratamento da dor aguda no setor de emergência mostrou-se eficaz reduzindo o tempo de permanência global, aumentando significativamente o número de pacientes que zeraram a EAD ou tiveram redução de 50% da EAD em 24 horas, sem significar aumento número de complicações.

0135

Estudo da atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) em membros de povos de terreiros na cidade de Teresina, PI

Vieira JF¹, Soares LF¹, Oliveira EH², Leal JM¹

¹ Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina, PI

² Secretaria de Saúde do Piauí – SESAPI, Teresina, PI

A glicose-6fosfato desidrogenase (*G6PD*) é uma enzima importante no metabolismo eritrocitário e está envolvida no mecanismo antioxidante da célula. Pelo fato dos glóbulos vermelhos não terem mitocôndria, a via das pentoses fosfato é a única fonte de NADPH e essência para sua ação contra o estresse oxidativo. A deficiência de *G6PD* é a enzimopatia mais frequente no mundo. A deficiência de *G6PD* é classificada como anemia hemolítica hereditária ligada ao cromossomo X. O gene da *G6PD* possui cerca de 400 variantes moleculares, muitas dessas associadas à enzimopatia. A deficiência de *G6PD* é prevalente no mundo todo, porém, é mais frequente nas populações de descendências africanas. Com o objetivo de estudar a atividade da *G6PD* em membros de povos de terreiros na cidade de Teresina, Piauí, no período de setembro a dezembro de 2011 foram analisadas 62 amostras de sangue de indivíduos de ambos os sexos com idade que variam dos 10 anos aos 80 anos no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Piauí. A atividade enzimática foi determinada pelo teste enzimático colorimétrico (NeOLISA – INTERCIÊNCIA). Foi identificada uma prevalência total de 6,5%, sendo 4,8% entre as mulheres e 10% nos homens. De acordo com o grupo étnico foram evidenciadas prevalências de 0%, 0% e 7,4% entre os brancos, pardos e negros respectivamente. Em relação ao conhecimento sobre a patologia, nenhum dos indivíduos relatou ter conhecimento sobre esta. Os Resultados encontrados mostram a importância do estudo sobre a patologia, pois evidenciou o quanto esta patologia é frequente na população estudada, contribuindo para o esclarecimento sobre a doença e as possíveis manifestações clínicas. **Palavras-chave:** Deficiência de *G6PD*, negros e povos de terreiros

0136

Educação continuada na doença falciforme-sala de espera

Queiroz AM¹, Carvalho EM¹, Serra DX¹, Nascimento EM², Lobo CL¹, Campos JS¹

¹ Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

² Coordenação dos Programa de Pós Graduação em Engenharia – COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

Este estudo tem como objetivo apresentar o projeto de educação continuada para disseminar informações acerca dos aspectos clínicos e laboratoriais da doença falciforme, através de palestras com linguagem de fácil entendimento, ministradas por profissionais de saúde envolvidos na assistência de pessoas com doença falciforme. **Métodos:** A programação foi elaborada pela equipe multiprofissional formada pelo grupo da dor, grupo de hemoglobinopatias e profissionais da emergência. Foram ministradas 23 palestras todas as segundas-feiras, no horário das 12:30 às 13:30, na prédio dos ambulatórios, com a participação total de 122 profissionais de saúde com duração de 6 meses. A divulgação foi feita através de cartazes e no dia da palestra, através de um convite entregue na recepção no momento do recebimento da senha para sua consulta ambulatorial. Na primeira parte da palestra eram dadas orientações relativas à Doença falciforme numa abordagem multidisciplinar tendo sempre como objetivo maior a educação continuada, preparando os participantes para a segunda parte do programa que foi constituído por troca de experiências estimulando os participantes a manifestarem suas dúvidas e necessidades. Os temas foram os seguintes: Saiba mais sobre a Doença Falciforme Como devo tratar minha Dor em Casa O que pode me levar a Emergência? Importância do Adolescente assumir o seu tratamento - Clube do Termômetro Carteirinha da Dor, Por que devo tomar hidroxurêia? Depoimento da paciente Monique. Clube do Sorriso - Demonstração de um DVD Saber como se alimentar melhor Complicações do pulmão na doença falciforme Como melhorar o seu sorriso

10. Uso do Respirom. Por que utilizá-lo?
11. Além da Doença Falciforme (psicologia)
12. Homem de Ferro- Por que acumulamos ferro? Como tratar?
13. Quando transfundir? Por que não tem sangue para mim?
14. Cuidados com a pele para evitar a úlcera de perna
15. Os rins na doença Falciforme e uso de medicamentos
16. Importância da adesão ao curativo preconizado
17. O que é o Programa Primeiros Passos?
18. Referências Importantes da minha doença que devo saber
19. Direitos dos pacientes com doença falciforme-Assistente social
20. Tudo sobre hidroxurêia em Doença Falciforme
21. O que é dor social?
22. Mitos e Verdades sobre o tratamento da dor na Doença Falciforme com medicações fortes
23. Visão na Anemia falciforme

Após a atividade foram distribuídos questionários para avaliar o impacto da atividade.

Resultados: Participaram da Educação Continuada 426 pacientes com doença falciforme, cerca de 19 pessoas por palestras, sendo que 384 foram a mais de uma palestra. A divulgação pelo convite entregue na recepção, no dia da palestra, foi o melhor meio, 57% ficaram sabendo através dele, 29% pela médica coordenadora do projeto e 12% pelo cartaz. Quanto ao item de maior impacto decorrente da palestra:

50% disseram que aumentariam a aderência às consultas

30% disseram que melhorou o entendimento da doença

11% disseram que aumentariam a aderência ao tratamento

8% disseram que diminuiria sua admissão na emergência

Conclusão: A Educação Continuada demonstrou ser uma boa ferramenta educacional, conseguindo uma participação efetiva e quantitativa dos pacientes com doença falciforme e dos profissionais envolvidos no seu tratamento. O projeto continuará em 2012, com refinamentos, como a filmagem para divulgação nas redes sociais.

0137

Proposta para organização da assistência da dor na doença falciforme com a modalidade hospital-dia

Carvalho QG¹, Andrade VR², Vieira AM^{1,3}

¹ Departamento de Enfermagem, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Caruaru, PE

³ Faculdade São Miguel, Recife, PE

Introdução: O termo doença falciforme (DF) define as hemoglobinopatias nas quais as duas hemoglobinas (alfa e beta) são anormais, constituindo formas sintomáticas do gene S, em homozigose como na anemia falciforme (AF) (hemoglobinopatia SS) ou em combinação com outras hemoglobinas, como a hemoglobina C (hemoglobinopatia SC), hemoglobina D (hemoglobinopatia SD), talassemia (S/Talassemia alfa ou S/talassemia beta), entre outras. Apesar das particularidades que as distinguem e de graus variados de gravidade, há considerável superposição do espectro epidemiológico e das manifestações clínicas e hematológicas. A AF é considerada um problema de saúde pública, e a crise algica a mais frequentes das complicações. A experiência da dor é algo contínuo nas vidas dos pacientes, tornando necessária a observação da intensidade e adequação da terapêutica de forma organizada, tornando-a eficaz e eficiente. A elaboração de um plano operacional e fluxograma de acolhimento em um Hospital-Dia (HD) direcionado à assistência da crise algica na DF proporcionarão a redução dos custos hospitalares e a melhoria da qualidade de vida do paciente, bem como de todo o contexto que envolve a pessoa com DF. **Objetivo:** Discorrer sobre a proposta de um plano operacional para implantação da assistência da dor na doença falciforme em regime de HD. **Métodos:** Estudo descritivo intervencionista realizado em hospital referência

em hematologia e hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), no período de agosto a dezembro de 2009. **Resultados:** Foram estabelecidas e detalhadas 8 metas, com a finalidade de implantar o HD para crise algica na DF: 1-Definir local; 2-Dimensionar o quadro de profissionais; 3-Listar materiais e equipamentos necessários; 4-Solicitar aquisição de materiais e equipamentos; 5-Solicitar contratação de profissionais; 6-Realizar capacitação dos profissionais direcionados à assistência no HD; 7-Estabelecer normas administrativas para o funcionamento do setor; 8-Relacionar os Procedimentos Operacionais Padrão. O plano operacional foi elaborado através da ferramenta administrativa 5W3H. Fluxogramas em bloco foram construídos para direcionar o atendimento ao portador de DF em crise algica, desde a admissão no setor de pronto atendimento, encaminhamento e procedimentos a serem realizados no HD. Foi elaborada uma proposta de formulário para acompanhamento do paciente em regime de HD, composto por admissão, graduação da dor por escala analógico-visual-numérica a cada hora de acompanhamento, alta e encaminhamentos. Algumas condutas foram sugeridas para a implementação do HD, tais como: manejo do paciente, organização do setor, formas de acompanhamento durante e após a visita ao HD e ênfase na educação em saúde para melhora do seguimento terapêutico. **Conclusão:** A implantação do HD promoverá a redução de custos, em médio e longo prazo, e redução do número de internações do paciente falciforme, para tratamento da dor, bem como a superlotação do serviço de pronto-atendimento. Uma vez em funcionamento, estará fornecendo ao portador de DF atendido na instituição, um tratamento direcionado e eficaz do manejo da crise algica, respeitando-se a subjetividade da dor referida pelo cliente e eficácia de abordagens anteriores, com a finalidade única de se prestar um alívio rápido da dor, proporcionando credibilidade, respeito à assistência prestada e melhora da qualidade de vida destes indivíduos.

0138

A prática educativa como ferramenta no tratamento da doença falciforme

Queiroz AM¹, Neumann LJ¹, Nascimento EM², Carvalho EM¹, Serra DX¹, Lobo CL¹, Rugani M¹

¹ Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

² Coordenação dos Programa de Pós Graduação em Engenharia – COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A doença falciforme (DF) é considerada um problema de saúde pública no Brasil. Estima-se uma frequência de setecentos a mil novos casos, por ano, de alguma forma da doença. Frente a uma doença crônica e progressiva, é visível a preocupação dos grupos de atendimento multiprofissional no que se refere ao aspecto educativo da abordagem terapêutica. Segundo o Ministério da Saúde, as ações de prevenção da doença, devem proporcionar a promoção do conhecimento da patologia, facilitar o acesso aos serviços de diagnóstico e tratamento, bem como as ações educativas dirigidas à população. Esta proposta objetiva dar continuidade dos processos de educação em saúde na instituição, visando a disseminar, por intermédio de palestras periódicas, ações de educação em saúde para facilitar o acesso a informações importantes, tais como: aspectos clínicos e laboratoriais da doença; complicações clínicas decorrentes da doença de base; tratamento multiprofissional adotado na clínica; a importância do uso da terapêutica medicamentosa; ações de autocuidado; além de esclarecimento de dúvidas dos pacientes acerca do tratamento que interferem na adesão. **Métodos:** No período de janeiro a maio de 2011, cem pacientes com Anemia Falciforme (SS) foram convidados a participar de uma atividade educativa através da exibição de um vídeo em 3D com recurso interativo sobre sobrecarga de ferro nos tecidos.

As dúvidas extraídas do momento interativo foram dirimidas pelas enfermeiras responsáveis. Dentre estes 100 pacientes, 35 utilizavam quelante oral de ferro; para estes pacientes foi indagado acerca da aderência ao tratamento. Cerca de trinta dias após esta intervenção foi aplicado novo questionário sobre aderência. Teste T foi utilizado para verificar as médias de dias de esquecimento do medicamento, antes e após a participação na mídia interativa. **Resultados:** Antes de assistirem o vídeo 71% afirmaram não conhecerem o efeito do ferro no organismo, após o vídeo, 100% soube explicar os efeitos da sobrecarga de ferro no fígado e coração. Entre os 35 pacientes que estavam em uso de quelante de ferro oral obteve-se os seguintes resultados:

- O tempo de uso do medicamento variou de 2 meses e meio a dois anos, com a média de 13 meses.

:-

	Antes do vídeo (dias)	Após o vídeo (dias)	P valor
% de pacientes que nunca esqueceram de tomar	31%	40%	P<0,001
Sobre o número de vezes em que se esqueceram de usar o medicamento			
Média	2	1	< 0,001
Mediana	2	1	< 0,001
3º quartil	3	2	< 0,001

Em relação à melhora da aderência, 94% dos pacientes reduziram o esquecimento do medicamento após vídeo.

Referente ao motivo do esquecimento, 31% dos entrevistados alegou falta de tempo; 29% afirmaram nunca ter esquecido o medicamento; 9% responderam que foi devido a alguma viagem; 9% estão aguardando liberação do medicamento; e 14% alegaram outros motivos e sem resposta 9%. **Conclusão:** O vídeo multimídia mostrou-se um instrumento facilitador da disseminação das informações acerca dos aspectos clínicos e laboratoriais da sobrecarga de ferro. Com este resultado, atingiu-se o objetivo de estimular e aumentar a adesão dos pacientes ao tratamento realizado com o uso de quelante de ferro, resultando na maior ciência de sua patologia e responsabilidade quanto ao uso do medicamento.

0139

Prevalência das complicações cardiopulmonares das doenças falciformes e sua associação com fatores de impacto: caso de Estudo no Paraná

Strauhs-Nitsch L¹, Baldanzi GR², Pietrovicz J³

¹ Faculdade Evangélica do Paraná – FEPAR, Curitiba, PR

² Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná – HEMEPAR, Curitiba, PR

³ Hospital Universitário Evangélico de Curitiba – HUEC, Curitiba, PR

As Doenças Falciformes são hemoglobinopatias hereditárias que cursam com complicações cardiopulmonares, por sua vez implicadas em um maior índice de morbimortalidade nos pacientes por elas acometidos, sendo este o principal tema desta publicação. O objetivo deste trabalho foi estabelecer a prevalência destas complicações em pacientes com Doença Falciforme acima de 30 anos, acompanhados em um centro de Hematologia e Hemoterapia do

estado do Paraná, divididos por sexo e idade, no período de Maio de 2011 a Fevereiro de 2012. Foram avaliados também os fatores que poderiam influenciar em tais complicações, sendo eles: uso de hidróxiuréia, histórico transfusional, tabagismo e histórico de gravidez. Neste estudo transversal, 19 pacientes de diferentes cidades do estado com diagnóstico de Anemia Falciforme e β S-talassemia foram submetidos à ecocardiografia em um hospital universitário da capital paranaense, sendo os exames feitos por um único examinador. Os parâmetros avaliados consistiram em espessura da parede ventricular esquerda, volume de câmaras atriais direita e esquerda, relação E/A, Fração de Ejeção e Velocidade de Regurgitação Tricúspide. Os pacientes também foram avaliados pelo Teste de Caminhada de 6 minutos, a fim de averiguar a capacidade funcional. Os pacientes foram equiparados a um grupo controle hígido e de mesma idade para estabelecimento e comparação entre perfis cardiopulmonares e posteriormente entre si, para avaliação dos fatores de impacto. A maioria dos indivíduos estudados (46%) encontrava-se em uma faixa etária jovem (30 – 39 anos) e era do sexo feminino (79%). As complicações cardiopulmonares foram encontradas em 14 dos 19 pacientes (74%), a mais comum sendo a Hipertrofia do Ventrículo Esquerdo (43%), seguida da Dilatação Atrial Esquerda (36%), Disfunção Diastólica (13%) e Hipertensão Pulmonar (13%). Os Resultados dos parâmetros ecocardiográficos específicos foram analisados pelo Teste t de Student, considerando-se um $p \leq 0,05$ significativo. Comparados ao grupo controle, os pacientes com Doença Falciforme apresentaram piores índices à ecocardiografia, com exceção da Fração de Ejeção e do Volume Atrial Direito. A avaliação funcional também se mostrou inferior nos pacientes falciformes. Fatores como sexo masculino, maior faixa etária e histórico de gravidez influenciaram negativamente no perfil cardiopulmonar dos pacientes falciformes; porém, o uso de hidróxiuréia e a transfusão crônica não tiveram impacto nas alterações estudadas por este trabalho. Especificamente no que tange a Hipertensão Pulmonar, os dois casos identificados foram no sexo feminino e classificados como leves. Concluiu-se, assim, que pacientes com Doença Falciforme tem prevalência expressiva de complicações cardiopulmonares, e estas podem ser influenciadas por fatores de caráter epidemiológico. É necessário por parte do médico tanto avaliação como seguimento rigoroso destes pacientes, uma vez que estas alterações têm impacto na morbimortalidade. **Palavras-chave:** Doença falciforme. Complicações Cardiopulmonares. Hipertensão pulmonar.

0140

Análise comparativa entre os Métodos de diagnóstico para talassemia alfa: dados preliminares

Souza BM¹, Souza RA¹, Salustiano SG¹, Carlos AM¹, Rodrigues CV², Pereira GA³, Souza HM⁴

¹ Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG

² Serviço de Pesquisa, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Belo Horizonte, MG

³ Disciplina de Bioestatística, Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG

⁴ Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG e Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Belo Horizonte, MG

Introdução: A talassemia alfa (tal. α) é causada por mutações nos genes α , resultando na síntese deficiente desta cadeia globínica, com modificação na composição da molécula de hemoglobina (Hb) e alteração na fisiologia e morfologia da hemácia. Dependendo da quantidade de genes α afetados, os portadores dessas mutações podem apresentar-se desde assintomáticos até com quadros de anemias hemolíticas graves e mesmo fatais. Temos observado na prática clínica elevadas frequências de tal. α , o que, além do alto

grau de miscigenação da nossa população, poderia estar refletindo baixa especificidade (Sp) das técnicas de triagem empregadas e elevada taxa de falso-positividade, o que motivou o presente estudo. **Métodos:** Foram colhidas 21 amostras de sangue para a realização dos testes laboratoriais, sendo 10 de recém-nascidos, seis de doadores inaptos por anemia e cinco de crianças com anemia a esclarecer. A triagem foi feita pela eletroforese de Hb em pH neutro e alcalino e pesquisa intraeritrocitária de Hb H em lâmina (PIEHH) pelo azul de crezil. Foram considerados talassêmicos quando os dois testes eram positivos e inconclusivos quando apenas um fosse positivo. Para o diagnóstico molecular pesquisou-se as mutações - α 3.7, - α 4.2, -SEA, -FIL, -THAI, -MED e - α 20.5, através da técnica de PCR multiplex. Para avaliar a concordância das duas técnicas de triagem foi usado o teste qui-quadrado de MacNemar e o seu desempenho em relação à de biologia molecular foi mensurado pela taxa de sensibilidade (Se) e Sp obtidas a partir do estimador de máxima verossimilhança. **Resultados:** A prevalência de tal. α , de acordo com os Resultados da triagem, foi de 28,57%, porém a genotipagem revelou a real prevalência de 14,28%. Quanto ao desempenho da eletroforese de Hb, observou-se que os três casos de tal. α genotipados tiveram eletroforese negativa. Assim, a Se da eletroforese foi de 0,0%; a Sp de 66,7% e o valor preditivo negativo (VPN) de 80,0%. A análise do desempenho da PIEHH evidenciou que todos os pacientes genotipados alfa-talassêmicos foram também positivos para este teste. Assim sua Se foi de 100%, mas com grande variação (30,0% - 100%) segundo intervalo de confiança de 95%; a Sp foi de 44% (22,0% - 69%); o valor preditivo positivo (VPP) de 23% e o VPN de 100%. Embora 100% dos pacientes com eletroforese positiva também apresentasse pesquisa de PIEHH positiva, observamos que somente 53,3% apresentaram resultado negativo para ambos, com concordância não significativa entre os testes ($p=1,0$). **Conclusões:** Observamos que após a genotipagem, a prevalência de tal. α teve uma redução de 50%. Analisando a eletroforese de Hb, percebemos que se um paciente apresentar resultado positivo a probabilidade de que ele seja doente é baixa e pouco confiável. Já se a positividade ocorrer na PIEHH a probabilidade de que seja doente é alta, mas também pouco confiável; enquanto que se o resultado for negativo temos uma probabilidade que varia de 63% a 100% de o indivíduo ser saudável. A concordância entre os dois testes de triagem não se mostrou significativa ($p=1,0$), o que é evidenciado pelo grande número de Resultados inconclusivos (28,57%) e reflete a importância da genotipagem para a confirmação ou exclusão dos casos falso-positivos para tal. α . Contudo, a baixa confiabilidade para as estimativas da Se, Sp, VPP e VPN se deve também ao ainda reduzido tamanho amostral.

0141

Identificação de fatores de risco, em pacientes com doença falciforme, que evoluíram para Síndrome Torácica Aguda no atendimento no setor de emergência

Queiroz AM, Lobo CL, Lima ALL, Aguiar TF, Rubin I, Boechat TO, Campos JS

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A síndrome torácica aguda (STA) é definida pelo aparecimento de infiltrado pulmonar recente com sintomas respiratórios ou dor torácica. Representa a causa mais comum de morte e a segunda causa mais comum de hospitalização na doença falciforme. No entanto, a sua etiologia não é completamente compreendida. Eventos vaso oclusivos, infecções bacterianas, eventos embólicos secundários à necrose óssea ou trombose venosa profunda podem ser associados com o desenvolvimento desta síndrome. **Objetivo:** Avaliar possíveis fatores de risco na admissão dos pacientes que evoluíram com STA, tratados no setor de emergência do Instituto Estadual de hematologia Arthur

Siqueira Cavalcanti. **Métodos:** Trata-se de um estudo de coorte transversal com 29 pacientes consecutivos com doença falciforme e evolução para STA, com idade maior de 15 anos, a partir de janeiro de 2012 atendidos no setor de emergência. Foram avaliados, na admissão, idade, sexo, tempo para o desenvolvimento de STA (TpD), fenótipo, a presença e local da crise álgica, sintomas respiratórios (tosse, dispnéia ou hemoptise), sinais vitais, imagem radiológica pulmonar, exames laboratoriais e uso de hidroxiuréia (HU). **Resultados:** Desses pacientes, 68% eram do sexo feminino, 82.7% tinham fenótipo SS, a mediana de idade foi de 29 anos e a mediana do TpD foi de 48 horas. Todos os pacientes foram admitidos devido crise álgica, sendo 17.2% dessas crises em região em região torácica. A mortalidade desse grupo foi de 20.6%. Das variáveis identificadas como possíveis fatores de risco ressaltamos a leucocitose (89%), o não uso de HU (68%) e a presença de sintoma respiratório (72%). Destes, 28% apresentavam febre na admissão, 37.9% tinha LDH acima de 2 vezes o valor de referência e 44.8% tinha infiltrado pulmonar. **Conclusão:** Esse trabalho nos permite formular a hipótese que a leucocitose, a presença de sintoma respiratório e o não uso HU podem ser fatores de risco para o desenvolvimento de STA nos que apresentam crise álgica admitidos no setor de emergência.

0142

Síndrome Hemolítico-Urêmica: um diagnóstico em biópsia

Lima MM¹, Santos FN¹, Bautzer VR¹, Oliveira EA¹, Macedo EM¹, Coriolano-Marinus MW², Souza CL¹, Neto EA³, Almeida AM¹, Nascimento CM¹, Sobrinho JJ¹

¹ Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

² Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

³ Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Síndrome hemolítico-urêmica (SHU) é uma entidade caracterizada por um quadro agudo de formação de trombos plaquetários induzido por toxinas originárias de infecções bacterianas. A principal bactéria envolvida é a *Escherichia coli* cepa O157H7, porém outras bactérias relatadas na literatura podem desencadear tal evento. O diagnóstico é clínico com evidencia de anemia hemolítica microangiopática, plaquetopenia e disfunção renal aguda. Sendo confirmado em biópsia renal onde evidencia microangiopatia trombótica. O presente caso relata uma paciente que teve o diagnóstico de SHU através da biópsia renal, sem manifestação laboratorial adjuvante. Paciente, feminino, 34 anos, admitida neste hospital em 30.06.2012, com quadro de febre, anasarca, piora da função renal, oligoanúria, anemia importante, icterícia e plaquetopenia progressivas. Apresentava diarreia alta aguda, sem sangue, há 10 dias da admissão. Aproximadamente dois meses antes da internação, apresentava quadro de fadiga, adinamia e alguns episódios de aumento da temperatura corporal. Investigação para quadro infeccioso foi negativa, porém devido persistência da febre, foi iniciado antibioticoterapia com ciprofloxacina e piperacilina-tazobactam. Foram realizadas provas de hemólise (Coombs direto negativo, DHL: 1131, bilirrubina total: 3,2 direta/indireta: 2,6/0,6; reticulócitos: 59000; haptoglobina: 169, esquizócitos: 0,1%. Hemograma da admissão: Hb: 9,2, VCM: 81,4, RDW: 13,7, leucócitos: 18120, plaquetas: 21000. Sorologias virais negativas. Pesquisa de auto-imunidade sistêmica e hepática negativas. Paciente evolui com piora progressiva da função renal, anúria, sendo então acompanhada pela nefrologia e indicado início de tratamento dialítico. Como ultrassonografia renal mostrava adequada relação cortico-medular, foi indicado a realização de biópsia que foi consistente com o diagnóstico de Microangiopatia Trombótica por comprometimento renal na Síndrome Hemolítica Urêmica, sendo então iniciado procedimento de plasmaferese, evoluindo com melhora clínica, denotada por queda do DHL: 596

após 04 sessões. Completado antibioticoterapia proposta e mantido suporte dialítico para alta. Reportamos um caso que o diagnóstico foi obtido de um exame complementar, indo de encontro ao diagnóstico clínico. A paciente foi exaustivamente pesquisada para outras possibilidades diagnósticas, porém foram todas negativas. A biópsia direcionou o tratamento e observou-se melhora clínica da paciente em questão. Na busca bibliográfica realizada pelo PubMed, não foi encontrado alguma descrição de caso onde somente a biópsia foi definidora do diagnóstico de síndrome hemolítico-urêmica.

0143

Relação das complicações clínicas com o tempo de doença em pacientes com hemoglobinopatia SC acompanhados no Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcanti

Queiroz AM, Lobo CL, Lima ALL, Boechat TO, Rubin I, Rugani M, Matos E, Campos JS

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A doença falciforme (homozigose SS, dupla heterozigose SC, S beta talassemia e SD) é a patologia hereditária homogênea mais frequente e a mais impactante, por sua alta prevalência e pela gravidade de suas manifestações clínicas. A hemoglobinopatia SC além da HbS existe a formação da HbC que acontece com a mudança do ácido glutâmico para lisina na sexta posição do N terminal da cadeia beta da hemoglobina, as hemácias que contêm hemoglobina C são mais rígidas que a normal justificando em parte a fisiopatologia da doença e suas manifestações clínicas. **Objetivo:** Este estudo tem como objetivo avaliar a relação das complicações clínicas agudas e crônicas da Hemoglobinopatia SC com o tempo de evolução da doença. **Métodos:** Estudo transversal com cinquenta (50) pacientes portadores de hemoglobinopatia SC, matriculadas em um hospital público especializado em Hematologia e Hemoterapia do Estado do Rio de Janeiro, no período de um (1) ano a partir de agosto de 2011 em atendimentos no setor de emergência ou nas consultas ambulatoriais. Estudo realizado através do levantamento dos prontuários observando os eventos clínicos relacionados à hemoglobinopatia SC: priapismo, Síndrome Torácica Aguda (STA), osteonecrose, nefropatia, úlcera de perna, retinopatia, cardiomegalia, litíase biliar e diminuição da acuidade auditiva. Nos exames laboratoriais foram estudados a proteinúria, a última dosagem de LHD e a última contagem de reticulócitos e, em relação às complicações agudas consideramos o número de crises álgicas durante o período de 1(um) ano. **Resultados:** Retinopatia, litíase biliar, osteonecrose e a diminuição da acuidade auditiva foram às complicações mais frequentes identificadas na hemoglobinopatia SC com relação ao tempo de doença com 58%, 22% e 22% respectivamente. Nefropatia em 10% dos pacientes, STA em 10%, cardiomegalia em 8%, priapismo 6% e úlcera de perna em 4% da população estudada. Cinco pacientes (10%) apresentaram um (1) episódio de Síndrome torácica aguda e 2 pacientes (4%) apresentaram 2(dois) episódios. Em relação ao número de crises álgicas por ano, observamos os seguintes **Resultados:** 27(vinte e sete) pacientes não apresentaram crise álgica, 13 (treze) pacientes 1(um) episódio, 4(quatro) pacientes 2 (dois) episódios, 4 (quatro) pacientes 3 (três) episódios e 1 (um) paciente 4(quatro) episódios. Em relação aos exames laboratoriais a LDH variou de 220 a 1333 U/L, com uma média de 517 U/L (dp: 218) e a média da contagem de reticulócitos foi de 4,2% (dp: 2,3). Proteinúria foi identificada em 12% da população estudada. O modelo de regressão logística identificou a idade como única variável relevante (p=0.0061). Cada ano de vida a mais, representa o aumento de 7,7% no risco de desenvolver retinopatia (OR=1077; 95% CI = 1.021–1.136).

A árvore de classificação ratifica este resultado, indicando um ponto de corte para a variável idade em 36,8 anos. Observa-se que a probabilidade de um paciente, com mais de 36,8 anos, desenvolver retinopatia é de 84% na população estudada.

0144

O estado nutricional na anemia falciforme em crianças

Santana LC, Rocha GP, Oliveira RC, Abreu KC, Araújo IM, Lima HC

Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luis, MA

Introdução: A ocorrência de atraso no crescimento e desenvolvimento em pacientes com anemia falciforme tem sido relatada na literatura e observada na prática clínica. O atraso da maturação óssea nesse grupo aumenta progressivamente com a idade. Em crianças com anemia falciforme, o metabolismo está muito acelerado em função da hemólise crônica, da anemia e de fenômenos vaso-oclusivos. Mesmo em períodos sem crises ou complicações, as necessidades de proteína, energia e minerais são elevadas. Vários fatores influenciam no déficit de crescimento, tais como as disfunções endócrinas, o baixo consumo alimentar, os requerimentos energéticos aumentados e a baixa condição socioeconômica. Por essas razões, os pacientes tendem a ser desnutridos e a ter frequentemente déficit de estatura, de peso e de maturação esquelética. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que anualmente nasçam no Brasil cerca de 2.500 crianças com doença falciforme, das quais aproximadamente 1.900 têm a anemia falciforme. A Estratégia de Saúde da Família desempenha papel fundamental nas ações de caráter primário aos pacientes com doença falciforme. Nessa perspectiva, relata-se o caso de uma criança portadora de anemia falciforme. Propõe-se um método de avaliação e acompanhamento do estado nutricional e da ingestão alimentar na Atenção Básica de Saúde. **Objetivo:** Analisar estudos publicados em meio eletrônico recentemente, sobre a conduta nutricional aplicada a indivíduos com Anemia Falciforme **Métodos:** Buscou-se na literatura científica, a partir de artigos publicados nas bases de dados Scielo e Lilacs, utilizando como descritores: *Estado Nutricional and Anemia falciforme em crianças* **Resultados:** Estudos clínicos e de metanálise evidenciam que o déficit de estatura crônico pode ser irreversível e prejudicial ao potencial genético de crescimento caso não haja intervenção oportuna. A alimentação da criança e a ingestão deve ter a densidade energética das preparações aumentadas, pois o consumo alimentar na infância está intimamente associado ao perfil de saúde e nutrição, principalmente em crianças menores de dois anos de idade. A anemia falciforme provoca maior demanda metabólica, mas não há registro de Métodos e equações específicas de uso ambulatorial para se medir ou estimar o gasto energético da doença falciforme em Pediatria. **Conclusão:** A literatura mostra a importância de estudos relacionados a composição corporal, os hábitos alimentares e as interações entre nutrientes na anemia falciforme. Ressalta-se que há uma gama de doenças genéticas e de erros inatos do metabolismo que desafia o profissional preocupado com a saúde alimentar de tais pacientes. O acompanhamento pela Equipe de Saúde da Família é uma estratégia válida para a melhoria da atenção prestada a este grupo, que tanto sofre com fatores ambientais e intrínsecos à doença crônica. A abordagem nutricional das doenças falciformes requer capacitação e treinamento dos profissionais que prestam atenção básica à saúde.

0145

Distribuição da anemia falciforme associada ao sistema ABO e RHD nos habitantes de Primavera do Leste, MT

Neves DR, Vieira EC, Silva RA, Medeiros MO

Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT, Cuiabá, MT

Anemia falciforme é uma doença genética, que leva a deformação das hemácias. Para poder passar facilmente pelos vasos sanguíneos, as células são arredondadas e elásticas. Porém, com a doença falciforme, ocorre uma alteração fazendo com que as hemácias assumam a forma de uma meia lua ou foice, depois que o oxigênio é liberado. As células em foice tornam-se rígidas e tendem a formar grupos que podem dificultar a circulação do sangue. Como há vasos sanguíneos em todas as partes do corpo, pode ocorrer lesão em qualquer órgão, como o cérebro, pulmões, rins e outros. A destruição prematura das hemácias afoiçadas provoca anemia, pois o nível de hemoglobina diminui. Essa doença é comum no Brasil, predominante entre negros, também ocorrendo entre brancos. A alta frequência de heterozigotos e a gravidade clínica dos homozigotos em nossa população vêm sendo alvo de políticas públicas adotadas pelo Ministério da Saúde e outras instituições governamentais no intuito de dispender cuidados especiais ao portador. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a incidência de hemoglobina Hb^S, associando a doença falciforme ao sistema ABO e RhD em Primavera do Leste, MT. Para determinar a ocorrência das classes genotípicas Hb^AHb^A, Hb^AHb^S e Hb^SHb^S foram coletados dados de 2708 indivíduos que doaram sangue na Unidade de Coleta e Transfusão do Serviço de Hemoterapia de Primavera do Leste, MT, desde a primeira coleta em outubro de 2005 até Setembro de 2011. Foram estimadas as frequências alélicas dos locos ABO e RHD, partindo-se da hipótese de que os genótipos se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Dos 2708 doadores, encontramos frequência de 0,0236 indivíduos com doença falciforme (Hb^SHb^S). Associando os indivíduos com a doença falciforme (Hb^SHb^S) ao sistema ABO/RhD, verificou-se frequências de: 0,0059 em indivíduos A,Rh+; 0,0048 em B,Rh+; 0,0003 em AB,Rh+; 0,0074 em O,Rh+; 0,0015 em A,Rh-; 0,0011 em B,Rh-; 0,0003 em AB,Rh- e 0,0022 em O,Rh-. Houve predominância da doença falciforme na classe fenotípica O,Rh+ (0,74%), seguida por A,Rh+ (0,59%) e B,Rh+ (0,48%). Baseando-se nas simulações estatísticas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2010 (52.114 habitantes) calculou-se 1.229,89 indivíduos falcêmicos (Hb^SHb^S) nessa população, sendo estimado 307,47 indivíduos HbSHbS/A,Rh+; 250,14 HbSHbS/B,Rh+; 15,63 Hb^SHb^S/AB,Rh+; 385,64 Hb^SHb^S/O,Rh+; 78,17 Hb^SHb^S/A,Rh-; 57,32 Hb^SHb^S/B,Rh-; 15,63 Hb^SHb^S/AB,Rh- e 114,65 Hb^SHb^S/O,Rh-. Considerando-se frequência de indivíduos HbSHbS (0,0236), pode-se calcular a frequência alélica de Hb^S nessa população: 0,1536. O número de heterozigotos (Hb^AHb^S) estimado foi de 8004,71. Espera-se que, esse tipo de análise viabilize uma melhor compreensão da estrutura genético-populacional decorrente da história local e com isso subsidiar o diagnóstico, prevenção e tratamento de doenças genéticas de caráter étnico. **Palavras-chave:** Doadores de sangue; doença falciforme; hemoglobina

0146

Gestantes com anemia falciforme (HB SS) ou com doença sc têm risco semelhante de óbito materno ou quase óbito (near miss): estudo prospectivo do projeto Aninha em Minas Gerais

Cardoso PS^{1,2}, Costa VM³, Januario MC⁴, Viana MB^{1,4}, Aguiar RA^{1,4}¹ Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG² Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Belo Horizonte, MG³ Hospital Odilon Behrens, Belo Horizonte, MG⁴ Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico - Nupad, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

Introdução: A doença falciforme durante a gravidez está associada com aumento de complicações relacionadas à própria doença e com morbimortalidade materna e perinatal mais elevada. O objetivo do estudo foi analisar as complicações clínicas de gestantes com doença falciforme, com enfoque principal naquelas potencialmente graves e ameaçadoras de óbito (“near miss”) ou que levaram a óbito materno. Buscou-se identificar fatores preditivos de “near miss” ou óbito materno com o intuito de prover informações para diminuir as complicações e melhorar o prognóstico materno e perinatal. **Métodos:** As 104 pacientes encontravam-se cadastradas no Hemocentro de Belo Horizonte (Fundação Hemominas) e foram atendidas em diversos serviços de Pré-Natal de Alto Risco. O estudo teve o desenho de coorte prospectiva. Quanto aos genótipos da doença falciforme, as gestantes foram divididas em dois grupos: Grupo I (n=54), constituído por anemia falciforme (Hb SS, n=51) ou S β^0 -talassemia (n=3) e Grupo II (n=50), hemoglobinopatia SC (n=49) ou S β^+ -talassemia (n=1). A idade mediana dos dois grupos foi de 25 e 26 anos, respectivamente. Os fatores preditivos para “near miss” ou óbito materno com probabilidade de erro alfa $P \leq 0,25$ na análise univariada foram incluídos em modelo multivariado de regressão logística, sendo considerados significativos aqueles com $P \leq 0,05$. **Resultados:** As gestantes do Grupo I apresentaram, em relação às do Grupo II, número mais elevado de episódios de crises vaso-oclusivas durante a gestação, maior número de transfusões no pré-parto e puerpério e maior porcentagem de partos pré-termos. A frequência de infecções e crises algicas durante o puerpério foram semelhantes nos dois grupos. As infecções urinárias foram igualmente frequentes nos dois grupos. A taxa de mortalidade foi de 4,8%, sendo três óbitos no grupo da anemia falciforme e dois no grupo da hemoglobinopatia SC. Um terço das gestantes em cada um dos grupos apresentou complicações graves classificadas como indicativas de “near miss”. A mais frequente foi a pneumonia/síndrome torácica aguda. A co-herança de alfa talassemia e os haplótipos dos genes da *beta globina* (CAR, Benin ou CAR/Benin) não se associaram significativamente com “near miss” ou óbito materno. Os fatores preditivos de “near miss” ou óbito materno, com significância estatística na análise multivariada das pacientes dos grupos I e II, foram paridade maior que um e macrocitose basal (volume médio das hemácias elevado). No Grupo I, a hipoxemia basal (saturação basal abaixo de 94%) também foi preditiva de “near miss” ou óbito materno. **Conclusão:** As gestantes com doença falciforme apresentaram diversas complicações durante a gravidez e no puerpério. Um terço das gestantes sofreu “near miss” e quase 5% foram ao óbito. Gestantes SS e SC apresentaram o mesmo risco de complicações graves e de morte materna, principalmente no terceiro trimestre e puerpério. Complicações pulmonares foram as mais frequentes e devem merecer cuidado especial, inclusive com realização de exsanguineotransfusão parcial. Treinamento especializado no pré-natal de alto risco para o seguimento das complicações da doença falciforme e identificação precoce dos fatores de risco para “near miss” ou óbito materno são fundamentais para melhorar a atenção à gestante com doença falciforme.

0147

Caracterização retrospectiva das complicações clínicas relacionadas à doença falciforme nas crianças triadas no programa estadual de triagem neonatal (PETN - MG) em Juiz de Fora – MG, no período de 1998 a 2010

Rodrigues MC¹, Vicente A², Araújo RN², Horta CM¹, Campos MA¹¹ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Belo Horizonte, MG² Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Suprema, Juiz de Fora

Introdução: Doença Falciforme é um termo genérico usado para determinar um conjunto de anemias hemolíticas hereditárias resultantes de alterações qualitativas da molécula de hemoglobina, caracterizadas pelo predomínio de uma hemoglobina anormal chamada Hemoglobina S (HbS). É uma afecção genética de importância clínica e epidemiológica, de grande prevalência nos brasileiros. Estima-se no Brasil, o nascimento de aproximadamente 3500 crianças/ano com Doença Falciforme. Em 2001, mediante a Portaria número 822/01 do Ministério da Saúde, foi criado o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), incluindo a triagem para as hemoglobinopatias, o que representou um avanço importante no reconhecimento da relevância das hemoglobinopatias como problema de saúde pública no Brasil e também o início da mudança da história natural da doença em nosso país. De acordo com o PETN-MG, com abrangência de todos os municípios de Minas Gerais e cobertura de 94% dos recém-nascidos vivos, a incidência da Doença Falciforme é em torno de 1: 1.400 recém-nascidos triados no Estado. Embora a alteração molecular seja a mesma em todos os pacientes com a doença, observa-se grande heterogeneidade fenotípica, variando desde casos graves (com morte precoce) a casos de leve complexidade e bom prognóstico. Essa variabilidade clínica deve-se à combinação de fatores ambientais e genéticos. Entretanto, apesar da busca na identificação de fatores prognósticos e moduladores evolutivos da doença, ainda é necessária uma maior elucidação desses fatores. **Objetivo:** Conhecer o perfil e as principais complicações clínicas das crianças portadoras de Doença Falciforme do Hemocentro Regional de Juiz de Fora – MG, triadas pelo PETN-MG, no período de 1998 a 2010. **Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo com coleta de dados de 201 prontuários das crianças portadoras de Doença Falciforme, triadas pelo PETN-MG e atendidas no Hemocentro Regional de Juiz de Fora - MG, no período de 1998 a 2010. Dez prontuários foram excluídos da pesquisa devido a dados incompletos. Os parâmetros clínicos e laboratoriais avaliados foram registrados em formulários elaborados pelos pesquisadores e inseridos em tabelas no programa MICROSOFT EXCEL. Os dados foram posteriormente analisados pelo programa SPSS 14. **Conclusão:** Dos 191 prontuário analisados, 45,9% dos pacientes eram homocigóticos para HbS (FS), 28,1% HbSC, 5,1% S-Beta-talassemia e 20,9% outras associações da HbS. Desses pacientes, 86 (44,9%) apresentaram Síndrome Torácica Aguda; 36 (18,9%) alterações cardiológicas; 6 (3,1%) Acidente Vascular Encefálico; 3 (1,6%) priapismo; 11 (5,8%) colelitíase, sendo que desses, 3 (1,6%) foram colecistectomizados; 4 (2,1%) pacientes tiveram retinopatia; 1 (0,5%) necrose de fêmur; 2 (1%) úlcera de membros inferiores, 11 (6,8%) apresentaram aloimunização., 77 (40,5%) pacientes apresentaram 3 ou mais crises dolorosas no período e 69 crianças (36,3%) precisaram de pelo menos 1 transfusão sanguínea. Estabelecendo um perfil epidemiológico das complicações clínicas da Doença Falciforme nas crianças de Juiz de Fora diagnosticadas precocemente pelo PETN – MG, poderemos avaliar a eficácia das medidas preventivas e gerais que são utilizadas em nossos pacientes.

0148

Rastreamento de traço falciforme e sua associação com marcadores inflamatórios em uma população atendida pelo programa médico de família na cidade de Niterói, RJ

Isaias L, Bertoni S, Kang HC

Universidade Federal Fluminense – UFF, Niterói, RJ

Introdução: Entre as doenças geneticamente determinadas, as anemias hereditárias são as mais comuns. No Brasil a alteração de maior frequência é a hemoglobinopatia S (Hb S), sendo o traço falciforme (Hb AS) mais prevalente (2% a 8%). Os indivíduos com Hb AS são, geralmente, assintomáticos, podendo apresentar sinais clínicos sob condições que propiciam a falcização, como hipóxia, desidratação e acidose. Não existem estudos de como esta doença interage com a Síndrome Metabólica (SM), uma anormalidade metabólica comum, resultante da presença simultânea de fatores como obesidade, diabetes mellitus, hipertensão arterial e alterações do metabolismo de lipídeos plasmáticos aliados a um quadro de resistência à insulina, que impede a ação do hormônio nos tecidos alvo, gerando um processo inflamatório crônico de baixa intensidade, que pode ser resultado da alteração do delicado equilíbrio das citocinas. Entre aquelas envolvidas com obesidade e resistência insulínica podemos ressaltar a Adiponectina (citocina antiinflamatória), a Resistina (confere resistência à insulina) e o PAI-1 (Inibidor 1 do Ativador de Plasminogênio - inibidor da fibrinólise). Assim, investigamos associações entre os componentes da SM e os marcadores inflamatórios em uma população apresentando Hb AS. **Métodos:** Foi realizado um estudo caso-controle familiar com a população do Estudo CAMELIA (Projeto Cardio-neuro-metabólico-renal familiar) que selecionou famílias adscritas ao Programa Médico de Família de Niterói-RJ. Os dados foram coletados entre Julho de 2006 e Dezembro de 2007. Após coleta de sangue, realizou-se eletroforese alcalina de hemoglobina (Hb), testes de solubilidade e afoiçamento, hemograma e dosagem dos marcadores inflamatórios em método de detecção simultânea de múltiplos analitos com a tecnologia Luminex® xMAP. **Resultados:** A população CAMELIA composta por 1098 indivíduos apresentou 46 (4,19%) Hb AS (58,7% e 41,3%), com média de idade de 39,8 anos ($\pm 17,3$). A análise da Hb apresentou média de 12,8g/dL ($\pm 1,0$) entre as mulheres e 14,2g/dL ($\pm 1,7$) entre os homens. Observamos um VCM (Volume Corpuscular Médio) médio de 84,4fL ($\pm 5,5$). A contagem média de leucócitos e plaquetas foi de 6209,3 ($\pm 1803,6$) e 250,1 ($\pm 60,8$), respectivamente. Em relação aos componentes da SM, 19,6% eram grupo controle; 63,0% eram hipertensos; 6,5% eram diabéticos e 10,9% eram hipertensos e diabéticos. O valor médio de IMC (Índice de Massa Corporal) dos Hb AS foi de 26,67 ($\pm 5,4$). Entre os marcadores inflamatórios, as médias observadas foram de 35,3 μ g/mL ($\pm 162,8$), 123,4ng/mL ($\pm 187,5$) 257,3ng/mL ($\pm 289,9$), referentes a Adiponectina, Resistina e PAI-1, respectivamente. Entre os indivíduos sem Hb S as médias de Hb foram pouco superiores (14,5g/dL $\pm 1,3$ e 12,9g/dL $\pm 1,2$), assim como a média de VCM (87,6fL $\pm 5,9$) mostrou-se pouco maior. Entre estes, o IMC mostrou-se inferior (25,9 $\pm 5,69$). As médias de Adiponectina (26,3 μ g/mL $\pm 365,6$), Resistina (117,6ng/mL $\pm 137,4$) e PAI-1 (269,6ng/mL $\pm 279,6$) foram semelhantes entre os indivíduos Hb AS e sem Hb S. **Conclusão:** Observamos uma frequência de Hb AS de acordo com a literatura disponível. Não verificamos associação entre o traço falciforme e os marcadores inflamatórios analisados. Entretanto, houve associação entre o sexo e IMC, bem como sexo e Adiponectina ($p < 0,001$). **Apoio financeiro:** FAPERJ.

0149

Incidência de hemoglobinopatias em recém-nascidos atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Carlos AM¹, Souza RA¹, Souza BM¹, Salustiano SG¹, Pereira GA^{1,2}, Moraes-Souza H^{1,3,4}¹ Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG² Disciplina de Bioestatística, Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG³ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Belo Horizonte, MG⁴ Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG

Introdução: As hemoglobinopatias constituem um distúrbio genético decorrente do desequilíbrio na produção de cadeias das globinas ou alteração na estrutura da hemoglobina. Dentre as anemias hemolíticas mais frequentes na população mundial destacam-se as falcemias e talassemias, consideradas problema de saúde pública devido às múltiplas complicações e alto grau de variabilidade fenotípica. Estas hemoglobinopatias são de grande relevância em nosso país que possui alta miscigenação, necessitando de identificação e tratamento precoces. O objetivo do estudo foi determinar a incidência de hemoglobinas anormais em recém-nascidos na região do Triângulo Mineiro. **Sujeitos e Métodos:** De setembro de 2011 a julho de 2012 foram coletadas 700 amostras de sangue de cordão umbilical de recém-nascidos atendidos pelo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC-UFTM), hospital de referência regional para toda região sul do Triângulo Mineiro. As amostras foram submetidas à eletroforese em pH alcalino, dosagem das hemoglobinas A2 e fetal. A confirmação da HbS foi realizada por eletroforese em pH ácido e da HbH em pH neutro, além de testes citológicos com coloração pelo azul de cresil brilhante. **Resultados:** Na população do estudo, 86% foram procedentes de Uberaba, 8% de municípios vizinhos e limítrofes e 6% de outras cidades e estados. Trezentos e cinquenta e sete indivíduos eram do gênero feminino (51%); 49,14% eram caucasóides e 50,86% não caucasóides. Das 700 amostras analisadas, 609 (87%) apresentaram perfil hemoglobínico normal para a idade (Hb AF), enquanto que 91 (13%) demonstraram alguma alteração, qualitativa ou quantitativa, nas formas heterozigotas e interativas. A hemoglobinopatia mais incidente foi a talassemia alfa (genótipo AFH) com 66 casos correspondendo a 9,43%. Foram observados ainda outros 12 casos de beta talassemia, sendo 10 isolados e 2 em heterozigose com a Hb S (1,71%) e 13 apenas com o traço falciforme (1,86%). A incidência de hemoglobinopatias no gênero feminino foi de 14% e no masculino de 11,95% ($p = 0,43$); nos não caucasóides foi de 13,76% e nos caucasóides de 12,21% ($p = 0,57$). **Conclusão:** A incidência de alfa e beta talassemia está de acordo com o encontrado em outros estudos no sudeste do país, porém maior que a encontrada anteriormente em Uberaba. Já a incidência do traço falciforme foi menor que a observada no estudo anterior de Uberaba e no estado de Minas Gerais. Contudo, estes estudos não informam a distribuição étnica dos indivíduos avaliados, o que pode, pelo menos em parte, justificar a discrepância observada. Em síntese, a alta incidência de talassemias em nosso meio (11,14%), não identificadas na triagem neonatal de rotina, reforça a necessidade de sua pesquisa em pacientes com anemia microcítica a esclarecer, especialmente naqueles não responsivos à terapêutica ferruginosa.

0150**Diagnóstico diferencial: esferocitose hereditária e leucemia linfóide aguda**

Valença DS, Lima MH, Monteiro PJ, Vale LL, Pereira CC, Neves FF, Lira AR, Dantas SG, Cunha AB, Botelho LF
Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: A Esferocitose Hereditária é uma anemia hemolítica congênita que resulta de alterações quantitativas e/ou qualitativas das proteínas da membrana do eritrócito. Caracteriza-se por hemácias em formato de esferócitos que se rompem ao entrar na circulação esplênica, levando ao quadro de anemia e esplenomegalia, além de icterícia intermitente. A Leucemia Linfóide Aguda, por sua vez, se caracteriza pelo acúmulo de progenitores ou precursores da linhagem linfóide, que recebem a denominação de blastos. Estes blastos são incapazes de se diferenciar em células maduras, porém tem grande poder de multiplicação, levando a um acúmulo de células disfuncionais na medula óssea e sangue periférico. Relato: KBS, 9 anos, foi internada no Hospital Infantil Ariinda Marques por múltiplos abscessos. Durante a internação e antibioticoterapia fez-se um achado de anemia (Hb: 7,1g/dl), plaquetas normais e uma leucopenia (3.000 g/dl), apesar da vigência da infecção, com predomínio de linfócitos. O esfregaço de sangue periférico não apresentava nenhuma alteração. Ao exame físico percebia-se uma esplenomegalia moderada. Após melhora do quadro infeccioso, recebeu alta hospitalar e uma semana depois foi reinternada com quadro de pneumonia. Realizou-se antibioticoterapia para a infecção respiratória. O curso da anemia continuou com o mesmo padrão, marcadores de hemólise positivos, leucopenia com predomínio de linfócitos e plaquetas normais. Foi pedido um mielograma para investigação da medula dessa criança, porém não foi possível realizá-lo nesse serviço. A investigação da anemia de caráter hemolítico progrediu com a realização de uma eletroforese de Hemoglobina e um Teste de Coombs, para afastar a hipótese de Anemia Falciforme e Anemia Hemolítica Auto-Imune respectivamente. Realizou-se ainda o Teste de Fragilidade Osmótica que positivando confirmava a hipótese de Esferocitose Hereditária. Após a melhora do quadro respiratório e com o diagnóstico de Esferocitose Hereditária, a criança passou a ser tratada ambulatorialmente. Chegou à emergência do mesmo Hospital 10 dias após a alta com estado geral grave, anemia severa (HB: 4,1 g/dl), leucocitose (Leuc: 43.000g/dl), plaquetopenia (Plq: 3.000g/dl), adenomegalia cervical bilateral e inúmeros blastos no sangue periférico: quadro clássico de uma Leucemia. **Comentários:** A paciente apresentando uma anemia hemolítica, infecções de repetição e esplenomegalia ao exame físico, sugeriam um quadro de Esferocitose Hereditária. O exame confirmatório focou ainda mais a hipótese da doença, confundindo a pesquisa de uma possível Leucemia. Neste hospital já houveram 3 casos de crianças com Teste de Fragilidade Osmótica positivos que posteriormente foram diagnosticadas com Leucemia Linfóide Aguda, o que mostra que a LLA não pode ser descartada pela confirmação deste exame. A LLA se apresenta de diversas maneiras e diante da gravidade e frequência desta doença na infância é importante que seja feito o diagnóstico o mais precocemente possível, visto que 75 a 80% das crianças que realizam o tratamento adequadamente evoluem para a cura.

0151**Estudo de toxicidade da hidroxiuréia sobre neutrófilos de pacientes com anemia falciforme**

Pedrosa AM, Barbosa MC, Leal LK, Lopes AA, Rocha TM, Sasahara GL, Elias DB, Hanemann AL, Bandeira IC, Goncalves RP

Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

A Anemia Falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia hereditária resultante da substituição de ácido glutâmico por uma valina no sexto códon do gene da β -globina. A hidroxiuréia (HU) constitui o avanço mais importante no tratamento da AF e é o único medicamento que, efetivamente, tem forte impacto na melhora da qualidade de vida dos pacientes, reduzindo o número de crises vasooclusivas, hospitalizações e óbitos decorrentes desta doença. Porém, pouco se sabe sobre os efeitos deste medicamento sobre os neutrófilos e na funcionalidade dessas células. O estudo teve como objetivo principal investigar o efeito do tratamento com HU sobre marcadores de toxicidade em neutrófilos de pacientes com AF acompanhados pelo serviço de hematologia de um hospital de referência em Fortaleza - Ceará. A amostra foi constituída por 43 pacientes adultos, de ambos os sexos, diagnosticados com AF por estudo molecular, sendo divididos em dois grupos: *Grupo SS* – formado por 17 pacientes com AF, e, *Grupo SSHU* – formado por 26 pacientes com AF em tratamento com HU. Um grupo controle, *Grupo AA*, foi formado por 30 indivíduos saudáveis, doadores de sangue em um hemocentro da cidade de Fortaleza-CE, com idade e sexo pareados. Os neutrófilos foram isolados, em seguida foi feito a mensuração da viabilidade celular pelo teste de exclusão pelo Azul de Tripán, da lactato desidrogenase (LDH) e pelo teste do 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina (MTT). A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa GraphPad Prism 5.0 (USA) e ANOVA, seguida pelo Teste de Tukey. O nível de significância foi fixado em 5% ($p < 0,05$). Os Resultados obtidos pelo ensaio de exclusão por Azul de Tripán mostram que os pacientes dos três grupos em estudo apresentaram boa viabilidade celular (com média \pm E.P.M. de 94,8 \pm 0,61; 92,4 \pm 0,60 e 94,6 \pm 0,77% para os grupos AA, SS e SSHU, respectivamente), porém houve uma diferença estatística significativa quando comparados os neutrófilos dos grupos SS e SSHU ($p=0,033$) corroborando com os encontrados pela mensuração dos níveis de LDH (média \pm E.P.M. de 8,03 \pm 1,40; 8,25 \pm 0,84 e 5,19 \pm 0,48 U/L, para os grupos AA, SS e SSHU, respectivamente), onde o nível de significância entre SS e SSHU apresentou valor de "p" igual a 0,003, indicando que a HU não exerce efeito de toxicidade sobre a membrana celular de neutrófilos, entretanto, pode conferir certa citoproteção, quando investigada por esses testes. No teste do MTT (com média \pm E.P.M. de 98,47 \pm 5,55 (AA); 92,42 \pm 7,02 (SS) e 99,96 \pm 5,42% (SSHU)), observamos uma redução percentual no número de células viáveis do grupo SS, porém nenhuma diferença estatisticamente significativa foi evidenciada entre os três grupos de estudo, sugerindo, até então, que a HU não altera o metabolismo celular dos neutrófilos. Contudo, até o presente momento, são muito escassos os relatos na literatura sobre a mensuração de testes de citotoxicidade em neutrófilos de pacientes com AF, o que nos faz concluir, até aqui, que mais estudos precisam ser realizados para se elucidar o comprometimento da integridade celular dos leucócitos diante da doença e a influência da HU nessas células.

Apoio financeiro: Funcap

0152**Abscesso e infarto esplênico durante viagem aérea em paciente com traço falciforme: relato de caso**

Monteiro PJ, Valença DS, Neves FF, Vale LL, Lima MH, Pereira CC, Cavalcanti LH, Costa VR, Dantas SG, Matis RL

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: As hemoglobinopatias são desordens hereditárias frequentes que afetam toda a população mundial e causam um grande problema de saúde pública. Os portadores de traço falciforme são indivíduos heterozigotos para o gene da hemoglobina S, representados laboratorialmente por Hb AS, possuindo, portanto, apenas um gene defeituoso. Geralmente, são evidencia-

dos em exames de rotina, já que o portador não apresenta a doença, nem possui alteração no número e na forma de hemácias. Estima-se em 30 milhões de pessoas portadoras de traço falciforme no mundo, sendo, portanto, uma condição relativamente comum. Apesar do traço falciforme ser uma situação clinicamente benigna, pode ocorrer a polimerização da hemoglobina sob condições de baixa tensão de oxigênio, como em grandes altitudes e viagens aéreas prolongadas, manifestando complicações como hematúria, hipostenúria, embolismo pulmonar e infarto esplênico.

Relato de Caso: JMA, 40 anos, masculino, apresentou dor epigástrica e em hipocôndrio esquerdo de forte intensidade, acompanhada de náuseas, vômitos e febre alta. O quadro teve início súbito e ocorreu durante uma viagem aérea de Pernambuco ao Distrito Federal. Nega sintomas prévios. O paciente foi encaminhado ao serviço de urgência com os mesmos sintomas, mas sem sinais evidentes de abdome agudo cirúrgico. Após melhora com hidratação venosa mais solução analgésica e antitérmica, foi submetido a uma TC de abdome, a qual mostrou área de infarto e abscesso esplênicos. Foi realizada eletroforese de hemoglobina que evidenciou padrão heterozigoto (AS) compatível com traço falciforme (HbA1: 61,7%, HbA2: 1,8%, HbF: 0, HbS: 36,5% e HbC: 0). O paciente foi submetido à hemotransfusão seguida de esplenectomia.

Comentários: O aspecto de relevância neste caso é a ocorrência de crise vasclusiva e abscesso esplênico em indivíduo assintomático, sem história prévia de anemia falciforme, manifestando-se pela primeira vez durante viagem aérea. Há relato de casos de infarto esplênico em pessoas com traço falciforme associados a altitudes elevadas ou vôos em aeronaves com cabines despressurizadas, entretanto, ainda não existe relato em vôos convencionais. No vôo, quando o avião atinge a altura máxima, a saturação de oxigênio cai de 99% a 94% em média, sendo que pessoas saudáveis não sentem esta redução. Quando há infarto esplênico, o paciente apresenta um quadro de dor abdominal em quadrante superior esquerdo, geralmente acompanhada de náuseas e vômitos. O exame de imagem de escolha para o diagnóstico é a tomografia computadorizada. Geralmente, a resolução do quadro se dá em 10 a 21 dias e, raramente, há necessidade de intervenção cirúrgica. A ocorrência de infarto e abscesso esplênicos com traço falciforme não é comum e frequentemente não é diagnosticada de início.

0153

Mortalidade por doença falciforme nas regiões Brasileiras: tendência temporal

Vale LL, Neves FF, Sousa EA, Filho GMCF, Valenca DS, Dantas SG, Lima MH, Pereira CC, Monteiro PJ, Botelho LF

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: A doença falciforme (DF) está inserida no grupo de doenças hereditárias de maior importância epidemiológica no Brasil e no mundo, sendo considerada um grande problema de Saúde Pública. O termo DF engloba um conjunto de anemias hemolíticas que têm em comum a presença de hemoglobina (Hb) S dentro da hemácia. O indivíduo pode ser homozigoto (SS), único genótipo que pode ser denominado anemia falciforme, ou heterozigoto (AS), situação em que ele é assintomático. Além disso, o gene da HbS pode combinar-se com outras anormalidades hereditárias das hemoglobinas, como a HbC e a betatalassemia, cujas combinações também são patológicas. As doenças falciformes têm alta morbidade e mortalidade precoce. A maioria dos eventos fatais ocorre durante exacerbações ou complicações agudas, como a síndrome torácica aguda ou o acidente vascular encefálico. No Brasil, a miscigenação entre os povos colonizadores favoreceu a dispersão desses genes anormais, fazendo do transtorno falciforme a doença hereditária monogênica mais comum em nosso país. Segundo dados do Ministério da Saú-

de, estima-se a existência, nas diferentes regiões brasileiras, de mais de 2 milhões de portadores do gene HbS e mais de 8 mil afetados com a forma homozigótica (HbSS). Somando-se ainda, a cada ano, mais de setecentos a mil novos casos no país. Em decorrência da alta prevalência e morbimortalidade geradas pela DF, o presente trabalho teve como objetivo analisar a tendência temporal das taxas de mortalidade por transtornos falciformes nas diferentes regiões do Brasil, no período de 2000 a 2010.

Métodos: Trata-se de um estudo descritivo da tendência da mortalidade para transtornos falciformes nas cinco regiões brasileiras, no período de 2000 a 2010. Foram selecionadas no Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), disponibilizado pelo DATASUS, as taxas de óbito cuja causa básica era a doença falciforme, codificada em D57 pela 10ª revisão da Classificação Internacional de Doenças (CID-10). A curva central de tendência da mortalidade, para cada região, foi estimada a partir de modelos de regressão linear, com intervalo de confiança de 95%, onde as taxas de óbito para doença falciforme (y) foram consideradas como variável dependente e, como variável independente (x), os anos do período estudado. Para análise estatística, foi utilizado o programa SPSS 20.0.

Resultados: De acordo com a avaliação dos gráficos, pudemos verificar que o número total de óbitos para DF, com o passar dos anos, teve correlação positiva de muito alta magnitude. Analisando as regiões separadamente, constatamos que as taxas de mortalidade no Norte e no Nordeste apresentaram uma tendência crescente durante o período estudado, enquanto que, para o Sudeste, as taxas mantiveram-se estáveis. Tanto a região Centro-oeste quanto a região Sul exibiram taxas de óbito de tendência decrescente com o passar dos anos, porém, apenas nesta última, a redução foi significativa.

Conclusão: Com este trabalho, concluímos que as taxas de mortalidade para doença falciforme têm aumentado no decorrer dos anos em várias regiões brasileiras, consistindo, ainda, em um grave problema de saúde pública. Dessa forma, torna-se necessário um estudo mais aprofundado em cada região, separadamente, a fim de que medidas estratégicas de combate à mortalidade possam ser direcionadas.

0154

Investigação de hipertensão arterial pulmonar nos pacientes adultos com anemia falciforme e hemoglobinopatias associadas do ambulatório do Hemocentro Regional de Juiz de Fora - Hemominas

Horta CM¹, Barral MM², Rodrigues MC¹, Rodrigues DO¹, Costa PM²

¹ Hemocentro Regional de Juiz de Fora, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG

² Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Suprema, Juiz de Fora

Introdução: Hipertensão da artéria pulmonar (HAP) é uma complicação grave que afeta aproximadamente 30% dos adultos com doença falciforme. A etiologia da HAP nestes pacientes é multifatorial: hemólise, disfunção endotelial, estresse oxidativo e inflamatório, hipóxia crônica, TEP crônico, doença hepática crônica, sobrecarga de ferro e asplenia. A hipertensão pulmonar (HP) tem sido estimada através do ecocardiograma (ECO) quando o jato de regurgitação tricúspide (JRT) encontra-se \geq a 2,5m/seg.

Objetivos: detectar pacientes adultos com doença falciforme atendidos no Hemocentro de Juiz de Fora que apresentam sinais ecocardiográficos de HAP. Investigar possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de HAP nestes pacientes. Propor intensificação do tratamento da anemia e encaminhar os casos mais graves.

Métodos: Em 3 anos foram avaliados 89 adultos com doença falciforme em Juiz de Fora através de dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. Os pacientes foram classificados pelo ECO em 2 grupos: com e sem HP. Os achados

foram comparados entre os grupos. **Resultados:** Dos 89 pacientes participantes 71,9% eram SS, 21,3% eram SC e 6,7% eram SB. Em 25 pacientes (28,1%) o ECO revelou sinais de HP com JRT \geq 2,5m/seg. A idade média foi maior nos pacientes com HP (37,1 anos) quando comparado aos sem HP (31,3anos, $p=0,021$). Predominou o sexo masc no grupo com HP (52%). No grupo sem HP os homens representaram apenas 26,6% ($p=0,023$). Dos 25 pacientes com HP, 2 eram graves - PSAP \geq a 50 mmHg (8%) e 9 eram moderados - PSAP entre 40 a 49 mmHg (36%). Não houve diferença estatística dos tipos de hemoglobinopatia nos grupos. A hemoglobina basal média foi 7,8% no grupo com HP e 8,7% no grupo sem ($p=0,02$), no entanto os valores médios de hemoglobina fetal nos 2 grupos foram semelhantes. Não foram encontradas diferenças nas incidências de AVC, priapismo, síndrome torácica aguda, HA e esplenectomia e tabagismo nos 2 grupos. Pacientes com HP apresentaram índices estatisticamente maiores de retinopatia e úlceras de perna. Os níveis de LDH, TGO, uréia e reticulócitos foram estatisticamente maiores nos pacientes com HP. **Conclusão:** Alterações ecocardiográficas revelaram a HP como ocorrência frequente nos falcêmicos do Hemocentro de Juiz de Fora. Como os sintomas de HP são semelhantes aos da anemia crônica fica evidente a importância de se utilizar como rotina um meio diagnóstico da complicação nestes pacientes. Níveis elevados de LDH, uréia, reticulócitos; níveis menores de hemoglobina basal e maior associação com úlceras de perna sugerem que a HP ocorra mais frequentemente em pacientes com reações hemolíticas mais intensas. A maioria dos falcêmicos encontrados com HP era de faixas etárias maiores o que se explica pelo aumento a expectativa de vida dos pacientes com doença falciforme nos últimos anos. Destaca-se o impacto futuro desta associação por não existir até o momento evidências claras sobre as melhores condutas terapêuticas para a HAP associada a doença falciforme.

0155

Perfil clínico e sócio-econômico dos pacientes com anemia falciforme atendidos no Centro de Hematologia de Roraima

Martin CN, Fonseca AJ, Siqueira RS, Morais IS, Murari RS, Carvalho RV, Silva HB

Unidade De Oncologia De Roraima – UNACON, RR

Introdução: Roraima é um estado isolado geograficamente, com cidades de difícil acesso terrestre, recursos financeiros escassos e com uma população heterogênea (imigrantes venezuelanos, guianenses, nordestinos, além de importante quantitativo indígena). O Centro de Hematologia e Hemoterapia de Roraima (HEMORAIMA) foi criado em 2008 visando atender as doenças hematológicas benignas, dentre elas, a anemia falciforme (AF). Esta hemoglobinopatia ocorre predominantemente em afrodescendentes, sendo mais frequente nas regiões norte e nordeste do Brasil, com incidência de 1/1000 habitantes. **Objetivo:** Analisar o perfil clínico, epidemiológico e social dos pacientes portadores de AF matriculados no HEMORAIMA desde a sua criação em julho de 2008 até junho de 2012. **Métodos:** Estudo de corte transversal, observacional, envolvendo pesquisa de informações dos prontuários e avaliação clínica, além de aplicação de questionário socio-econômico durante as consultas ocorridas no primeiro semestre de 2012. Por envolver pesquisa em seres humanos o projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Roraima (UFRR) com parecer favorável. **Resultados:** Durante o período de estudo foram matriculados 40 pacientes portadores de AF com eletroforese de hemoglobina compatível. Destes, 70% são mulheres, tendo média de idade de 21,41 anos, sendo 50% negros e 50% pardos. No aspecto econômico, 70% tem renda mensal familiar de até 3 salários mínimos,

70% não trabalham e apenas 20% recebem o benefício do INSS. Dentre os dados clínicos 2 pacientes realizaram esplenectomia e as complicações mais frequentes foram: pneumonia (80%), dores osteoarticulares com frequência superior a uma crise/mês (50%), litíase biliar com necessidade de colecistectomia (20%), priapismo (10%) e AVE (10%). A taxa média de hemoglobina dos pacientes foi de 8,9 mg/dl (6-12,2mg/dl), com dosagem de ferritina superior a 1000mg/dl em 8 (20%) pacientes, que necessitaram de quelação de ferro e apenas 4 pacientes utilizavam hidroxiuréia no momento da coleta de dados, apesar de um número maior ter indicação formal para uso, em torno de 30%, de acordo com as diretrizes do Ministério da Saúde (MS). O número médio de transfusões realizadas foi de 3,75 unidades/paciente/ano. O número médio de consultas anuais variou de 1 a 12, evidenciando a falta de seguimento adequado de alguns pacientes. Durante o período de observação 2 pacientes foram a óbito. **Conclusão:** A população de Roraima segundo o IBGE em 2010 é de 450 mil habitantes. Levando em consideração a incidência de AF no Brasil, é esperado um número maior que os 40 pacientes acompanhados no Centro, o que torna evidente a subnotificação da doença. As possíveis causas para a deficiência da cobertura do atendimento no estado são: não referenciamento destes indivíduos pela atenção primária e serviços de emergência, a dificuldade de fixar profissionais; a inexistência de um serviço de hematologia pediátrica, a falta de um fluxo entre o hospital infantil e o centro de referência, a passividade em relação a busca ativa de pacientes e principalmente a ausência de política pública local focada no portador de AF. Diante desse cenário torna-se urgente a organização do fluxo estadual para melhor acompanhamento dos pacientes com AF e melhoria do diagnóstico e acompanhamento dos casos.

0156

Prevalência de hemoglobinopatias triadas no período de 2004-2011 pelo serviço de referência em triagem neonatal do Estado do RS

Macedo JL¹, Diedrich V¹, Filippon L¹, Wagner SC², Pilger DA³, Weber C¹, Castro SM^{1,3}

¹ Serviço de Rastreamento e Triagem Neonatal, Hospital Materno-infantil Presidente Vargas, Prefeitura Municipal de Porto Alegre, Porto Alegre, RS

² Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA, Porto Alegre, RS

³ Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

Introdução: Hemoglobinopatias são desordens genéticas da globina, resultantes da presença de hemoglobinas variantes e/ou talassemias, que apresentam manifestações clínicas variáveis, desde a morte na infância até uma ausência total de sintomas. Atualmente, mais de mil hemoglobinas variantes já foram descritas, sendo a hemoglobina S (Hb S) e a hemoglobina C (Hb C) as mais frequentes. O Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) estabelece que os Serviços de Referência em Triagem Neonatal (SRTN) de cada Estado brasileiro em Fase II ou III do Programa devem realizar seleção de casos de Hemoglobinopatias e sua confirmação diagnóstica. **Objetivo:** Determinar a prevalência de hemoglobinopatias na população neonatal do Rio Grande do Sul no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2011, procedentes da rede pública de saúde. **Métodos:** Amostras de sangue capilar de recém-nascidos obtidas em papel filtro foram analisadas através dos Métodos de cromatografia líquida de alta pressão eou focalização isoeletrica. **Resultados:** Foram avaliadas 848.129 amostras de recém-nascidos. Entre elas, 1,49% ($n=12.627$) apresentaram um padrão hemoglobínico alterado, incluindo 104 casos de síndromes falciformes (67 Hb FS, 13 Hb FSC, 21 Hb FSA, 1 Hb FSD, 1 Hb FS/Shelby e 1 FS/E-Saskatoon) e outras hemoglobinopatias (1

Hb FCD, 2 Hb FAH, 1 Hb FC, 2 Hb FCA) o que representa 1: 8000 nascimentos portadores de hemoglobinopatias no estado. Entre os heterozigotos, foram detectados 10.254 (1,21%) Hb FAS, 1.634 (0,19%) Hb FAC e 355 (0,04%) Hb FAD. Destaca-se a presença de 274 (3,23%) amostras heterozigotas para hemoglobinas variantes raras. Entre as variantes raras obteve-se amostra de DNA de 42 RNs e a partir do sequenciamento, foram observadas 23 variantes de cadeia alfa (3 Hb Woodville, 1 Hb Chad, 2 Hb Hasharon, 3 Hb G-Phil, 4 Hb G-Pest e 10 Hb Stanleyville) e 19 de cadeia beta (11 Hb E-Saskatoon, 1 Hb Osu-Christianborg, 1 Hb Richmond, 1 Hb O-Arab, 1 Hb J-Guantanamo, 1 Hb Beckman, 1 Hb Shelby, e 2 Hb Hope). Os demais casos permanecem em investigação. **Conclusão:** Ao comparar os Resultados encontrados com os obtidos em outras regiões do Brasil e do mundo, observa-se uma distribuição de padrões hemoglobínicos bastante heterogênea. A triagem neonatal permite o diagnóstico precoce das síndromes falciformes, possibilitando a instituição de tratamento preventivo, diminuindo a morbidade e mortalidade na infância. O elevado número de heterozigotos observados demonstra a necessidade de aconselhamento genético e investigação de outros membros da família. Ainda, o diagnóstico correto das hemoglobinas variantes raras previne a aplicação de procedimentos e terapias equivocadas e ainda fornece material para o estudo de aspectos estruturais, funcionais e antropológicos. A variabilidade de perfis hemoglobínicos identificados nesta amostra reflete a heterogeneidade da população do sul do país e também pode fornecer dados sobre a composição étnica e grau de miscigenação.

0157

Epidemiologia dos pacientes atendidos na UNIFAL, Camaçari, BA

Borja MM¹, Novais T¹, Justos N¹, Gomes A², Silva LM²

¹ UNIFAL - Programa Municipal De Atenção Básica A Pessoas Com Doença Falciforme, Camaçari, BA

² ACAPDF- Associação Camaçariense De Portadores De Doença Falciforme, Camaçari, BA

Introdução: Funciona em Camaçari - Ba a UNIFAL, Centro de Referência para portadores de Doença Falciforme (DF). Nestes 03 anos de funcionamento já foram atendidos mais de 2500 consultas de várias demandas. A unidade fruto de parceria Federal/ Estadual/Municipal e com apoio da Associação Camaçariense dos Portadores de Doença Falciforme tem realizado um árduo trabalho de busca ativa, cadastramento, acolhimento, apoio diagnóstico, educação permanente em saúde, graças ao trabalho multidisciplinar da sua equipe. **Métodos:** Foram analisados prontuários de 206 pacientes atendidos na unidade (UNIFAL) de fev/2009 a jul/2012 que apresentaram confirmação diagnóstica (Hb SS, Hb SC, Stal, Hb CC e Talassemia minor), usados dados da anamnese, exame clínico, avaliação laboratorial com hemograma e confirmação diagnóstica por identificação de hemoglobinas pelos Métodos de eletroforese e cromatografia (HPLC). A análise estatística foi feita pelo método quantitativo frequência absoluta e relativa pelo *software* excel programa windows 2007. **Resultados:** Foram considerados 206 pacientes: 89 (43%) do gênero masculino (M) e 117(57%) do gênero feminino (F); 103 HbSS (50%), 49 M e 54 F, 89 Hb SC (43%), 35 M e 54 F, 6 Stal (3%), 3M, 3F, 4 Hb CC (2%), 4F, 1 Hb DC (0,5%), 1F, 3 Tal minor (1,5%), 2M e 1F. A idade dos pacientes variou de 1 ano a 70 anos distribuídos da seguinte forma: 1-5 anos: 30 (14%); 6-19anos: 85 (41%); 20-30anos: 43 (21%); 31-40 anos: 26 (13%); 41 a 50anos: 14 (7%); e >50anos: 8 (4%). Temos 65% dos pacientes com idade 1- 19 anos e 86% com idade de 1-30anos. **Conclusão:** A maioria dos nossos pacientes é composta por crianças, adolescentes e adultos jovens. Além das medidas protocolares do programa existe a preocupação da capacitação profissional e inserção

destes no mercado de trabalho tornando-os socialmente ativos e respeitados. O perfil epidemiológico norteia as condutas e metas da nossa unidade.

0158

Frequência e perfil clínico da doença falciforme nos pacientes atendidos na UNIFAL, Camaçari, BA

Borja MM¹, Novais T¹, Justos N¹, Gomes A², Silva LM²

¹ UNIFAL- Programa Municipal de Atenção Básica a Pessoas com Doença Falciforme, Camaçari, BA

² ACAPDF- Associação Camaçariense dos Portadores de Doença Falciforme, Camaçari, BA

Introdução: A Doença Falciforme (DF) possui elevada incidência no Brasil sendo a Bahia o Estado com maior prevalência. Doença com quadro clínico heterogêneo, sendo mais frequentes e graves as complicações dos eventos vaso-oclusivo e infecciosos. O objetivo deste estudo é pontuar a frequência da Doença Falciforme no nosso ambulatório e os agravos clínicos de maior ocorrência. **Métodos:** Análise retrospectiva de prontuários dos pacientes com Doença Falciforme (DF) atendidos em ambulatório de 2009 a 2012. Os parâmetros avaliados foram: idade, sexo, genótipo, e complicações clínicas. A análise estatística foi feita pelo método qualitativo de frequência absoluta e relativa pelo *software* excel (programa windows 2007). **Resultados:** Temos hoje cadastrados em acompanhamento ambulatorial periódico 198 pacientes com o diagnóstico de doença falciforme. Destes 103 (52%) são do genótipo SS, 89 (45%) do genótipo SC, e 6 (3%) genótipo Stal. Em relação ao sexo: 87 (44%) do gênero masculino (M) e 111 (56%) do gênero feminino (F). A idade dos pacientes variou de 1 à 70 anos distribuídos da seguinte forma: 1-5 anos: 30 (15%); 6-19 anos: 80 (41%); 20- 30anos: 43 (21,5%); 31-40anos: 25 (12,5%); 41- 50 anos: 13 (6,5%); e > 50 anos: 7 (3,5%). Dos pacientes estudados que necessitaram de internamento encontramos: crise algica recorrente 14%, infecções graves 7%, priapismo 1,5%, sequestro esplênico 2,5%, STA 2%, cirurgia de vesícula 3%, AVE 0,5%, aborto espontâneo 1%, dactilite 0,5%. Fazendo parceria com Universidade Federal da Bahia (UFBA), Serviço de Ortopedia podemos identificar 11 pacientes (5,5%) com osteonecrose, destes 2 (1%) foram submetidos a tratamento com células tronco e 1 (0,5%) cirurgia de prótese em fêmur. Fizemos vários mutirões para realização de Doppler Transcraneano diagnosticando 7 pacientes (3,5%) apresentando alterações significativas; entre eles 1 com Moya-Moya. Contando com a parceria e colaboração do Serviço de Cirurgia Plástica (UFBA), temos 9 pacientes (4,5%) portadores de úlceras em MMII com graus de gravidade variáveis que necessitam de procedimento especializado. Estão em regime de transfusão crônica 8 pacientes (4%) por motivos diversos: 3 alteração Doppler, 2 AVE, 3 sequestro esplênico. Temos 6 (3%) pacientes em uso de hidroxiureia e 3 (1,5%) pacientes em uso de quelante de ferro e 1(0,5%) pacientes com hipertensão pulmonar em uso de oxigênio domiciliar. **Conclusão:** O estudo constante dos casos da UNIFAL, conhecimento das patologia de maior frequência e individualização do atendimento servem para nortear medidas por grau de importância e prioridade. Fidelizar os nossos pacientes, trabalhar com medidas protocolares e lidar com as sequelas é o nosso desafio.

0159

Doença falciforme e alterações osteoarticulares na infânciaPedreira FA^{1,2,3,4}, Rodrigues DO^{1,3,5,6}, Pereira FA^{1,2,4,6}, Dias TL^{1,2,4,5}, Teixeira MT⁵, Ribeiro LC⁵, Proietti AB¹, Costa MA^{2,3}, Kroger FL^{2,3}¹ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG² Liga Acadêmica de Hematologia - Hemoliga³ Universidade Presidente Antônio Carlos - FAME/UNIPAC, Juiz de Fora, MG⁴ BIC FAPEMIG⁵ Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG⁶ Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Suprema, Juiz de Fora

Introdução: A Anemia Falciforme (AF) é a patologia hematológica hereditária mais frequente no Brasil. A AF cursa com várias manifestações osteoarticulares, dependendo da faixa etária. A síndrome mão-pé (dactilite) é mais comum nas crianças menores de 7 anos, particularmente aquelas com idade entre 1 e 2 anos. A dactilite é uma complicação vaso-oclusiva aguda, caracterizada por dor e edema no dorso das mãos ou nos pés ou ambos simultaneamente, muitas vezes acompanhados por aumento de temperatura e eritema. O processo inflamatório é doloroso, a criança fica irritada, inquieta e com dificuldade de mobilizar a região atingida. A maioria dos episódios resolve dentro de 2 semanas e pode apresentar como aspecto radiológico uma “mariposa comida”. Historicamente, existem extensas áreas de infarto medular, com formação de osso periosteal. O diagnóstico diferencial deve ser feito com artrite juvenil e osteomielite. **Objetivo:** Analisar a incidência de lesões osteoarticulares em crianças com anemia falciforme. **Métodos:** Foram estudadas 89 crianças portadoras de Anemia Falciforme nascidas no período entre março de 1998 a dezembro de 2007 com diagnóstico através da técnica de focalização isoelétrica, cromatografia líquida de alta resolução realizada pelo laboratório NUPAD/UFMG cadastradas no Hemominas Juiz de Fora. Realizou-se uma revisão bibliográfica, em bases de dados científicos da área médica como: Medline, Pubmed, LILACS, SciELO no período de 2000 a 2012, com os unitermos: anemia falciforme, síndrome mão-pé e osteonecrose (Decs). A pesquisa encontra-se autorizada pelo CEP e registrada no CONEP. **Resultados:** Das crianças estudadas 2 foram à óbito devido septicemia, 01 criança apresentou com osteomielite com boa resposta medicamentosa, 01 criança evoluiu com osteonecrose de quadril, tendo sido submetida à terapia com células progenitoras na Universidade Federal da Bahia com excelente resposta e 11,3% evoluiu com pelos menos 01 episódio de dactilite. **Conclusão:** Os dados levantados pela pesquisa estão de acordo com a literatura internacional. Nos Estados Unidos, a incidência de dactilite em crianças com anemia falciforme foi 12%. Envolvimento osteoarticular é comum na anemia falciforme, mostrando alta morbidade e está entre os motivos mais frequentes de procura aos serviços de emergência. O diagnóstico precoce, obtido através da triagem neonatal na primeira semana de vida, tem permitido a atuação positiva do hematologista e ortopedista pediátrico. Além de facilitar o tratamento sintomático destas complicações de abordagem multidisciplinar.

Suporte financeiro: Fapemig

0160

Análise dos pacientes adultos falcêmicos com osteonecrose de cabeça de fêmur em Juiz de ForaBittar G¹, Bittar GG^{1,2,3}, Horta CM^{1,4}, Rodrigues DO^{1,2,4}, Rodrigues MC^{1,4}, Chaves JA^{2,3}, Ferreira SA²¹ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG² Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG³ BIC FAPEMIG⁴ Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Suprema, Juiz de Fora

Introdução: A doença falciforme é a hemoglobinopatia mais frequente em nosso país e constitui um grave problema de saúde pública em decorrência de sua alta frequência no Brasil. Esses pacientes apresentam comprometimento ósteo articular em 80% dos casos. Estudos estimam que a incidência de osteonecrose de cabeça femoral em falcêmicos varie entre 10 a 30% sendo responsável pelo retardo ponderal nas crianças e invalidez nos adultos. A detecção precoce e o tratamento especializado para essa patologia contribui para a melhora da qualidade de vida dessas pessoas bem como para reduzir a morbidade e incapacitância determinada pela degeneração articular falcêmica. **Objetivo:** Identificar nos pacientes adultos com doença falciforme do ambulatório do Hemominas de Juiz de Fora aqueles que apresentam sinais radiológicos de osteonecrose de cabeça de fêmur e correlacionar com as seguintes variáveis: exame físico articular, Índice de Massa Corpórea (IMC), sexo, idade, tipo de hemoglobinopatia e hemoglobina basal. **Métodos:** Foram estudados pacientes adultos portadores de doença falciforme cadastrados no Hemominas Juiz de Fora no período de março de 2011 a janeiro de 2012. Os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e foi utilizado um instrumento de coleta de dados elaborado pelos pesquisadores com informações sobre: idade, sexo, cor, tabagismo, uso de hidroxiúria, história de úlcera de perna, retinopatia e dor em membros inferiores. Os paciente foram examinados para verificar a mobilidade de quadril e estudo radiográfico de quadril para detecção de alterações ósseas sugestivas de osteonecrose de cabeça do fêmur conforme Ficat & Arlet. Foi realizada revisão de literatura no período de 2000 a 2011 nas bases PubMed, Scielo com os unitermos: hemoglobinopatias, anemia falciforme, osteonecrose e necrose da cabeça do fêmur. O projeto está aprovado no CEP e cadastrado na CONEP. **Resultados:** Foram avaliados 44 pacientes, com média de idade de 36,5 anos (IC 95% 32,11-40,89), sendo 29 (65,9%) mulheres e 15 (34,1%) homens. Foi encontrado prevalência de 25% de osteonecrose de cabeça femoral nos pacientes estudados. A média de idade entre o grupo de pacientes com essa patologia foi semelhante àquele que não apresentava osteonecrose da cabeça femoral (36,45 vs 36,78). Não foi encontrada diferença no IMC dos dois grupos (21,84 vs 23,41 $p = 0,36$). Observou-se maior prevalência de mulheres (91%) em relação aos homens (9%) (IC95%, $p = 0,043$) naqueles que apresentaram a complicação. Dos onze pacientes (25%) que apresentavam osteonecrose da cabeça femoral, três deles (27,2%) foram diagnosticados na fase IIa, um (9%) na fase IIb, um (9%) na fase III e seis (54,5%) na fase IV de Ficat & Arlet. Tido, (27,2%) com lesão à direita (18,3%) com lesão à esquerda e 54,5% com comprometimento bilateral. Foi observada a frequência de 19,3% entre os pacientes com genótipo SS, 40% entre os SC e 33,3% entre os S β -talassêmicos. **Conclusão:** A necrose de cabeça do fêmur é comum nos portadores de doença falciforme. A maioria dos pacientes acometidos pela comorbidade a apresentaram em estágio avançado. Os Resultados obtidos nessa pesquisa corroboram os encontrados na literatura estudada. O diagnóstico precoce pode facilitar o tratamento bem como melhorar a qualidade de vida, diminuindo as limitações decorrentes dessa enfermidade.

Suporte financeiro: Fapemig

0161

Autocuidado na anemia falciforme na assistência primária a saúde

Rodrigues DO^{1,2,3,4}, Teixeira MT², Pedreira FA^{1,4,5,6}, Pereira FA^{1,3,5,6}, Dias TL^{2,5,6}, Costa MA^{4,5}, Kroger FL^{4,5}, Pazinato AP^{4,5}, Loures LA^{4,5}, Oliveira CM^{2,4}

¹ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG

² Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

³ Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Suprema, Juiz de Fora

⁴ Universidade Antonio Carlos FAME UNIPAC JUIZ DE FORA

⁵ Liga Acadêmica de Hematologia HEMOLIGA

⁶ BIC FAPEMIG

Introdução: A implantação da triagem neonatal para a Anemia Falciforme (AF) em 1997 em Minas Gerais mudou a história natural da doença. A doença falciforme tem sintomatologia muito variada com alta mortalidade e morbidade diretamente relacionada com a própria doença. A atenção integral descentralizada, multidisciplinar, humanizada, de qualidade e com ênfase no autocuidado pode modificar a evolução da doença. **Objetivo:** Analisar o impacto da APS no autocuidado em AF. **MÉTODOS:** Foi realizada uma revisão bibliográfica, nas bases de dados Medline/Pubmed, LILACS, SciELO com os unitermos: anemia falciforme, autocuidado e mortalidade. **Resultados:** Verificou-se nos 20 artigos identificados que o desenvolvimento do autocuidado permitiu ao paciente a aquisição de hábitos pessoais positivos em relação à doença, além de se informar, se interessar, se envolver e, finalmente, tornar-se atuante no processo de transformação. As estratégias utilizadas pela APS estão intimamente relacionadas com a educação em saúde familiar e popular. **Conclusão:** A assistência multiprofissional com foco no cliente, descentralizada com ações organizadas e de eficácia comprovada na prevenção, integrada ao modelo SUS, humanizada, com abordagem holística e na filosofia do desenvolvimento do autocuidado realizada pela Atenção Primária reduz a morbimortalidade da doença falciforme. **Apoio Financeiro:** FAPEMIG

0162

Infecção pelo parvovírus B19 e sua relação com a crise aplástica na anemia falciforme

Costa MA^{1,2}, Pedreira FA^{1,2,3,4}, Pereira FA^{1,3,4,5}, Dias TL^{1,4,6}, Soares FS^{1,5}, Sampaio FS^{1,5}, Pereira SR^{1,5}, Rodrigues DO^{2,3,5,6}, Oliveira CM^{2,6}

¹ Liga Acadêmica de Hematologia HEMOLIGA

² Universidade Antonio Carlos FAME UNIPAC JUIZ DE FORA

³ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG

⁴ BIC FAPEMIG

⁵ Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Suprema, Juiz de Fora

⁶ Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

Introdução: O Parvovírus Humano B19 ou eritrovírus é um patógeno muito comum associado à diversas doenças como o eritema infeccioso na infância. A anemia falciforme (AF) é um distúrbio hereditário caracterizado por hemólise crônica. A infecção pelo parvovírus nos pacientes com doença falciforme leva à uma supressão da eritropoiese agravando o quadro da anemia pré existente, essa aplasia pode ocorrer na fase aguda da infecção ou na fase de convalescência, sendo o parvovírus B19 o principal agente etiológico responsável pela parada maturativa na AF. O parvovírus é transmitido através das secreções de vias aéreas superiores, por hemoderivados e em alguns casos por transmissão vertical durante a gestação. **Objetivos:** Identificar a relação da infecção pelo

parvovírus B19 e a crise aplástica na AF, bem como manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento. **Métodos:** Foi realizada uma revisão bibliográfica nos periódicos nacionais e internacionais, nas bases de dados Scielo e PubMed com artigos de 1992 a 2007. **Resultados:** O Parvovírus B19 tem tropismo pelas células progenitoras eritróides e, no seu processo de replicação, ele se torna citotóxico para as células infectadas, o que gera uma aplasia pura de células vermelhas no paciente com AF, com ausência de precursores eritróides na medula óssea e ausência de reticulócitos na circulação. O tempo decorrido dos sintomas prodrômicos até o reaparecimento dos reticulócitos circulantes é de 10 a 12 dias. O quadro clínico se inicia com febre, fraqueza, cefaléia, mal-estar, sugerindo um quadro viral, cerca de 15 dias antes da aplasia. O diagnóstico laboratorial se dá com queda abrupta da hemoglobina (Hb), queda dos reticulócitos, positividade da IgM na fase aguda e da IgG na fase crônica, já o antígeno pode ser detectado por hibridização do DNA, P.C.R. (Reação de Polimerase em Cadeia), ou microscopia eletrônica. O tratamento pode ser conservador ou expectante ou requerer suporte hemoterápico, quando houver sinais de descompensação cardíaca. **Conclusão:** O parvovírus B19 é considerado o mais importante causador de crise aplástica em pacientes com doença falciforme. A infecção pelo parvovírus, além de causar a ausência de precursores eritróides na medula óssea ainda pode estar associado a alterações de outras linhagens medulares que não a eritrocitária levando a complicações como neutropenias em diversos graus e trombocitopenia, devido ao efeito sobre os megacariócitos, sendo que alguns pacientes podem evoluir para necrose maciça da medula óssea.

Palavras-chave: Doença falciforme, Parvovírus humano B19, Crise Aplástica Transitória.

0163

Identificação dos haplótipos da cadeia de beta globina nos pacientes com doença falciforme em Juiz de Fora

Kroger FL¹, Rodrigues DO^{1,2,3,4}, Teixeira MT³, Martins ML², Storffes AA^{2,5}, Ribeiro LC³, Pereira FA^{2,4,5}, Dias TL^{3,5}, Pedreira FA^{1,2,5}

¹ Universidade Antonio Carlos FAME UNIPAC JUIZ DE FORA

² Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG

³ Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

⁴ Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Suprema, Juiz de Fora

⁵ BIC FAPEMIG

Introdução: As hemoglobinopatias afetam cerca de 7% da população mundial, sendo as desordens hereditárias mais comuns nos seres humanos. Elas resultam de mutações nos genes que codificam as cadeias globínicas alfa (α) e beta (β) da molécula de hemoglobina. A doença falciforme também pode resultar da dupla heterozigose da HbS com outras hemoglobinas mutadas e pode coexistir com as talassemias. Há descrição de 5 haplótipos ligados à HbS: Asiático (ou Indiano-Asiático), Senegal, Benin, Bantu (CAR) e Camarões. Além de ocorrerem em regiões geográficas diferentes, discute-se se haplótipos estão associados a uma gravidade clínica diversa nessa doença. **Objetivos:** Identificar os haplótipos nas crianças portadores de doença falciforme e correlacionar este estudo genético com a clínica e níveis séricos de hemoglobina fetal. **Métodos:** Foram determinados os haplótipos do grupo do gene da globina beta por PCR (reação em cadeia da polimerase) e RFLP (polimorfismo de tamanho dos fragmentos de restrição), de acordo com protocolo modificado de Sutton de 79 crianças com diagnóstico de doença falciforme diagnosticadas através do *screening* neonatal e que são atendidas no HEMOMINAS Juiz de Fora. **Resultados Parciais:** A análise dos haplótipos dos pacientes estudados até o momento representa 59,4% dos sujeitos da pesquisa, destes 40,5% possuem haplótipo CAR/CAR, 19% pelo CAR/Benin e 1,26% Benin/Benin. Nos pacientes com

heterozigose para HBS 19% foram CAR/atípico, seguido por Benin/atípico (6,33%). Foram identificados haplótipos incomuns na região mineira como Senegal e Camarões. Houveram 7 óbitos e 8 transferências de pacientes para outros centros de referência. **Conclusões:** No Brasil a doença falciforme está associada a uma mistura de haplótipos africanos. O conhecimento dos haplótipos do grupo da *beta globina* nos pacientes com doença falciforme pode trazer informações históricas sobre estudos populacionais e antropológicos. Este estudo continua em andamento inclusive com o objetivo de determinar a Hemoglobina Fetal X Haplótipo X Morbidade, analisando a importância da identificação do haplótipo no prognóstico da doença.

Suporte financeiro: Ppsus- Fapemig (Cds- Apq-01431-10), Hemominas

0164

Avaliação da associação entre doença falciforme e alfa talassemia nos pacientes atendidos no Hemominas Juiz de Fora

Pereira FA^{1,2,3}, Rodrigues DO^{1,2,4,5}, Teixeira MT⁴, Rodrigues CV¹, Ribeiro LC⁴, Kroger FL^{3,5}, Dias TL^{3,4}, Pedreira FA^{1,3,5}, Ribeiro G³

¹ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG

² Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Suprema, Juiz de Fora

³ BIC FAPEMIG

⁴ Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

⁵ Universidade Antonio Carlos Fame Unipac Juiz De Fora

Introdução: A doença falciforme (DF) é a mais frequente das desordens hematológicas hereditárias. Ocorre por uma mutação no gene da *beta globina*, que causa a substituição do ácido glutâmico por um resíduo de valina na posição 6 no cromossoma 11, levando a formação da hemoglobina S (HbS) a talassemia engloba um grupo de hemoglobinopatias caracterizadas por redução de uma ou mais cadeias polipeptídicas de globina, levando a uma anemia microcítica hipocrômica. Em indivíduos saudáveis, há quatro genes, no cromossomo 16, que determinam a síntese das cadeias de alfa globina. Quando há deleção de um gene desenvolve-se o estado de portador assintomático. A deleção de dois genes causa a talassemia alfa heterozigota, enquanto que a de três genes determina a Doença de hemoglobina H. A deleção dos quatro genes causa a Síndrome de Hidropisia Fetal com a formação da Hemoglobina de Bart's. Pacientes que apresentam a associação entre anemia falciforme e alfa talassemia possuem um quadro clínico mais brando, incluindo redução dos níveis de hemólise e inibição da polimerização da hemoglobina S. **Objetivos:** Avaliar a associação entre doença falciforme e alfa talassemia nos pacientes atendidos no HEMOMINAS Juiz de Fora. **Métodos:** Será realizado o diagnóstico molecular de genotipagem nos alelos mais comuns para a alfa-Talassemia (alfa3.7) por PCR (reação em cadeia da polimerase) em 118 crianças com diagnóstico de doença falciforme diagnosticadas através do *screening* neonatal e que são atendidas no HEMOMINAS Juiz de Fora no período de 1998 a 2007. **Resultados:** Os Resultados parciais de 85 pacientes analisados evidenciaram que 69,41% não apresentam mutação no gen da alfa talassemia, 25,88% apresentavam o genótipo de portadores silenciosos com a mutação em 1 gene, 4,71% apresentavam deleção de 2 genes. Dos pacientes analisados 54,12% eram portadores de Anemia Falciforme, 30,58% eram portadores de Doença Falciforme HbSC, 3,53% portadores de Doença Falciforme HbSJ, 1,18% eram portadores de Doença Falciforme HbSD e 10,59% eram portadores de SBeta-talassemia. No programa ocorreram 7 óbitos e 8 transferências para outro centro de tratamento. **Conclusão:** É significativa a frequência de portadores silenciosos e heterozigotos para alfa-Talassemia entre as crianças com doença falciforme. O presente estudo con-

tinua sendo realizado para correlacionar clinicamente a coexistência da alfa talassemia com doença falciforme e sua utilização como fator prognóstico. **Suporte financeiro:** Ppsus- Fapemig (Cds- Apq-01431-10), Hemominas

0165

Ocorrência de hemoglobinas anormais em universitários da rede particular da cidade de Montes Claros, MG

Santos KC, Azevedo MR

Universidade de Santo Amaro – UNISA, São Paulo, SP

A incidência de hemoglobinopatias no Brasil varia de acordo com a fixação regional dos principais grupos raciais colonizadores. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), mundialmente, 270 milhões de pessoas carregam genes que determinam a presença de hemoglobinas anormais. A escassa informação sobre o assunto na cidade de Montes Claros – MG foi o objetivo deste estudo que procurou avaliar em 191 estudantes universitários (45 homens e 146 mulheres) a ocorrência de hemoglobinas anormais. As amostras de sangue total foram analisadas em equipamento COULTER T-890 para todos os parâmetros da série eritrocitária. Um total de 20 amostras apresentando concentração de hemoglobina inferior a 13,5 g/dL para homens e 12,5g/dL para mulheres foram encaminhadas para análise das hemoglobinas por eletroforese. Os Resultados mostraram presença de alterações da hemoglobina em 3 (2,05%) dos participantes do gênero feminino com a ocorrência dos fenótipos AC, AH e AS sendo uma em cada amostra. O estudo das hemoglobinopatias nos estados e regiões do Brasil é de fundamental importância para adequação dos programas de prevenção e controle além de alertar para uma abordagem ambulatorial consciente para qualquer paciente, com ou sem anemia.

0166

Ocorrência de talassemia alfa em recém-nascidos, doadores de sangue inaptos por anemia e crianças com anemia a esclarecer

Carlos AM¹, Souza RA¹, Salustiano SG¹, Souza BM¹, Pereira GA^{1,2}, Moraes-Souza H^{1,3,4}

¹ Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG

² Disciplina de Bioestatística, Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG

³ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Uberaba, MG

⁴ Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG

Introdução: As talassemias são distúrbios hereditários da hemoglobina humana, resultantes de alterações em genes responsáveis pela produção das cadeias de globina. São classificadas de acordo com o tipo de cadeia cuja produção está afetada em: α , β , σ , $\gamma\sigma$ e $\sigma\beta$, sendo a primeira a mais prevalente. A gravidade do quadro clínico da talassemia alfa (α -tal) está associada ao número de genes alfa afetado, permitindo a seguinte classificação da doença: portador silencioso; traço alfa talassêmico; doença da HbH e hidropisia fetal por Hb Barts. Considerando as variações regionais da α -tal no país, o presente estudo tem o objetivo de conhecer a sua ocorrência na região do Triângulo Mineiro. **Métodos:** De setembro de 2011 a julho de 2012 foram coletadas 615 amostras de sangue, das quais 500 foram provenientes de recém-nascidos do berçário do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro- HC-UFTM, 105 de doadores de sangue inaptos

por anemia do Hemocentro Regional de Uberaba- HRU e 10 de crianças atendidas no Ambulatório de Hematologia Pediátrica do HC-UF7M com anemia a esclarecer. As amostras foram submetidas à eletroforese em pH alcalino, neutro e ácido, dosagem das hemoglobinas A2 e fetal, além de testes citológicos com coloração pelo azul de crezil brilhante. O diagnóstico de α -tal foi feito quando tanto a eletroforese de hemoglobina em pH alcalino e neutro quanto na pesquisa citológica dos corpúsculos de inclusão foram considerados positivos para tetrâmeros de hemoglobina β e/ou γ . **Resultados:** Observamos que 85% dos indivíduos eram procedentes de Uberaba, 8% de municípios vizinhos e limítrofes e 7% de outras cidades e estados. A hemoglobinopatia mais prevalente foi a α -tal (genótipo AH/AFH) com 58 casos, correspondendo a 9,4%. Entre os grupos a sua ocorrência foi de 8,4% nos recém-nascidos, 14,3% nos doadores de sangue e 10% nas crianças com anemia a esclarecer, no entanto, sem superioridade significativa nos doadores inaptos e nas crianças com anemia a esclarecer, em relação aos recém-nascidos ($p=0,07$ e $p=0,58$, respectivamente). A ocorrência no gênero feminino foi de 10,93% e no masculino de 9,64%; nos caucasóides foi de 9,55% e nos não caucasóides de 9,3% e ($p=1,0$). Em relação aos testes eletroforéticos e citológicos para a pesquisa de HbH, 73,8% apresentaram concordância e 26,18% Resultados inconclusivos (negativos na eletroforese e positivo na pesquisa citológica dos corpúsculos de inclusão de HbH), sendo esta concordância significativa ($p<0,0001$). **Conclusão:** A ocorrência de α -tal encontrada nesse estudo (9,43%) mostrou-se dentro do valor estimado no Brasil que varia de 10 a 15%. Embora sem significância estatística, a maior ocorrência em doadores de sangue inaptos (14,3%) e crianças anêmicas (10%) pode ser explicado por se tratar de grupos já pré selecionados por apresentarem anemia, enquanto que os recém-nascidos foram avaliados sem pré-seleção. Resultados inconclusivos para a pesquisa de HbH revelam a dificuldade na identificação visual dessa hemoglobina quando bandas tênues são formadas, não excluindo o possível diagnóstico da α -tal. Tal dificuldade de detecção pode ocorrer quando são encontradas concentrações inferiores a 1% de HbH. Contudo, a pesquisa molecular dos polimorfismos mais frequentes da α -tal se faz necessária, especialmente nos casos de Conclusão nos testes de triagem.

0167

Autoimmune hemolytic anemia in association with chronic hepatitis C virus infection: a retrospective analysis of antiviral therapy-naïve patients

Almeida AJ¹, Muniz LP¹, Magalhães MC¹, Brandão-Mello CE², Lampe E³

¹ Setor de Hematologia/CMB, H.U. Gaffrée e Guinle, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO, Rio de Janeiro, RJ

² Setor de Doenças do Fígado/CMA, H.U. Gaffrée e Guinle, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO, Rio de Janeiro, RJ

³ Laboratório de Hepatites Virais - LAHEP, Instituto Oswaldo Cruz - IOC, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ

Introduction: Chronic hepatitis C virus (HCV) infection is widely reported in association with an array of extrahepatic manifestations, including autoimmune disorders such as thrombocytopenia, thyroid autoimmunity, and hemolytic anemia. Uncommon reports of Coombs' positive autoimmune hemolytic anemia (AIHA) related to chronic HCV infection have been published in the literature, however, the clinical, biological, and virological features of this putative extrahepatic manifestation are not well known. **Aims:** The aims of this study were to evaluate the prevalence and immunohematological profile of HCV-related AIHA, as well as its association with other immunological abnormalities and virological aspects in a cohort of antiviral therapy-naïve patients with chronic HCV infection.

Methods: Design – Retrospective chart review. Definitions – AIHA associated with chronic HCV infection was defined as follows: (i) isolated hemolytic anemia (HA); (ii) HCV infection diagnosed before or concurrent with the development of HA; (iii) a positive direct Coombs' test; and (iv) failure to document other mechanism involved in the process leading to HA. The diagnosis of chronic HCV infection was based on anti-HCV antibodies and HCV-RNA detection in serum samples of patients with infection of more than 6 months' duration. Patients were excluded from the study if they met one or more of the following criteria: (i) patients who had received or were under antiviral therapy; positivity for hepatitis B surface antigen; and (iii) positivity for antibodies to human immunodeficiency virus (HIV-1/2). None of the enrolled patients had received therapy with drugs implicated with the development of hemolytic anemia and no other known causes of anemia such as systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis were found in the patients enrolled in this study. Setting – Hematology and Liver Disease Clinics from Gaffrée & Guinle University Hospital/UNIRIO, attending the population living in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Results:** HCV patients were referred for hematological evaluation between January 2011 and June 2012, and a total of 190 patients, 84 (44.2%) males and 106 (65.8%) females with a mean age of 49.9 ± 11.0 (21-70) years were studied. Five (2.6%) patients were found to have AIHA, 3/5 females, with age ranging from 32–66 years. Regarding immunohematological features, all cases were due to warm-reacting autoantibodies (IgG isotype), with distinct specificities (anti C, anti-D, anti-E, and anti-k) and variable intensity (1+ to 2+/4+). Other immunological abnormalities were detected in association with AIHA cases: antithyroperoxidase ($n=1$), antithyroglobulin ($n=2$), and anticardiolipin IgM antibodies ($n=1$). Infecting HCV genotypes were 1a ($n=2$), 1b ($n=2$), and 3a ($n=1$), with only one patient presenting high plasma viral load ($>600,000$ IU/mL). **Conclusions:** The low prevalence rate of AIHA suggests that this alteration is an infrequent extrahepatic manifestation of chronic HCV infection. HCV-related AIHA cases were found to be caused by warm-active antibodies of IgG isotype with distinct specificities. HCV-related AIHA was also diagnosed in association with other immunological abnormalities and appears not to be an extrahepatic manifestation dependent on a particular HCV genotype.

Financial Support: PROEP/CNPq

0168

Haplótipos do cluster beta em pacientes com doença falciforme provenientes do Estado do Rio Grande do Norte

Fernandes TA^{1,2}, Alves JJ³, Nascimento AN³, Cabral CH³, Bezerra CM³, Serafim ES⁴, Medeiros TM³, Sonati MF²

¹ Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, Mossoró, RN

² Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

³ Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, RN

⁴ Hemocentro Dalton Barbosa Cunha – HEMONORTE, Natal, RN

As doenças falciformes se caracterizam por apresentarem uma heterogeneidade clínica substancial. Diversos fatores parecem influenciar esta variabilidade fenotípica, dentre os quais se destacam o genótipo responsável pelo desenvolvimento da doença e os níveis de hemoglobina Fetal. Estes níveis são determinados geneticamente e os haplótipos do *cluster* beta se constituem como um dos fatores mais intimamente associados. Além disto, a análise destes haplótipos permite compreender melhor as raízes ancestrais africanas das populações com etnia negra nas regiões estudadas. O presente estudo teve como objetivo determinar as frequências dos haplótipos do *cluster* beta em um grupo de pacientes com doença falciforme provenientes do estado do Rio Grande do Norte. Foram analisadas amostras de sangue de 100 pacientes

com doença falciforme (49 do sexo masculino e 51 do sexo feminino), com idade variando de 1 a 63 anos, não aparentados e naturais do estado do Rio Grande do Norte. Dentre eles, 81 possuíam o genótipo SS e 19 apresentavam a interação HbS/talassemia beta. Todos os pacientes, ou seus representantes legais, foram previamente esclarecidos a respeito do estudo e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram realizadas as seguintes análises laboratoriais: hemograma, eletroforese de hemoglobina em pH alcalino, teste de solubilidade, dosagem das hemoglobinas A₂ e Fetal, confirmação molecular do genótipo da doença falciforme, e determinação dos haplótipos do *cluster* beta, tanto β^S quanto β^{Tat} (para os pacientes com interação S/talassemia beta). Para os pacientes SS, a distribuição cromossômica dos haplótipos β^S foi 126 (77,7%) CAR, 18 (11%) Benin, 9 (5,6%) Camarões, 8 (4,9%) Atípicos e 1 (0,6%) Saudi. O genótipo haplotípico mais frequente foi o CAR/CAR (61,7%), seguido de CAR/Benin (14,8%), CAR/Camarões (8,6%), CAR/Atípico (7,4%), Benin/Benin (3,7%), CAR/Saudi (1,2%), Camarões/Camarões (1,2%) e Atípico/Atípico (1,2%). Entre os pacientes com a interação S/talassemia beta, os haplótipos β^S mais frequentes foram o CAR (84,2%), Benin (10,5%) e Camarões (5,3%), e os β^{Tat} mais comuns foram o V (68,4%), II (15,8%), I (10,5%) e VI (5,3%), sendo os genótipos CAR/V (52,6%), CAR/II (15,8%), CAR/I (10,5%), Benin/V (10,5%), CAR/VI (5,3%) e Camarões/V (5,3%) as combinações de haplótipos do *cluster* beta mais encontradas. Nesse estudo, a maior frequência do haplótipo CAR seguida pela frequência do haplótipo Benin foi semelhante à descrita em estudos anteriores realizados em um grupo de pacientes com anemia falciforme do estado do Rio Grande do Norte, e em pacientes falcêmicos do estado de Pernambuco. No entanto, a frequência dos haplótipos β^{Tat} nos pacientes com interação S/beta mostrou-se diferente da descrita para esta classe de falcêmicos no estado de Pernambuco, o que pode estar relacionado ao tipo de mutação responsável pelo fenótipo talassêmico nos pacientes com interação S/talassemia beta. **Suporte financeiro:** CNPq

0169

Haplótipos beta-globina e sua relação com fatores genéticos que influenciam os níveis de hemoglobina fetal

Carrocini GC, Junior EB, Silva DG, Venancio LP, Bonini-Domingos CR

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP

A hemoglobina Fetal (Hb F) é formada por duas cadeias globínicas alfa e duas gama ($\alpha_2 \gamma_2$). Em indivíduos adultos, a hemoglobina adulta, Hb A ($\alpha_2 \beta_2$), compreende 98% do total, enquanto os genes γ -globina são pouco expressos e a Hb F engloba até 1% do total. Relatos da literatura indicam a presença de fatores genéticos que influenciam a expressão dos genes da γ -globina, dentre eles a Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal (PHHF) e o polimorfismo *Xmn* I (-158 C à T). Além desses fatores, a análise dos haplótipos da família β -globina tem sido utilizada em estudos que envolvem a variabilidade genética. Foram descritos nove padrões de combinação diferentes desses haplótipos (I a IX). Os objetivos desse trabalho foram verificar a relação existente entre os haplótipos β -globina, mutações deletionais de PHHF e o polimorfismo *Xmn* I em indivíduos adultos com Hb F aumentada, bem como a relação desses fatores em conjunto com os níveis elevados dessa hemoglobina. Foram utilizadas 51 amostras de sangue periférico de indivíduos adultos, sem queixa de anemia, provenientes da região noroeste do estado de São Paulo. Todas as amostras foram submetidas aos testes clássicos de diagnóstico de hemoglobinopatias e análise cromatográfica para quantificação dos níveis de Hb F. Posteriormente foi realizada análise molecular por Gap-PCR, para rastreamento de duas mutações deletionais

de PHHF (PHHF-1 e PHHF-2), PCR-RFLP para identificação do polimorfismo *Xmn* I e para os seis sítios polimórficos que caracterizam os haplótipos β -globina (IVS-II γ^c , IVS-II γ^a , gene $\Psi\beta$, 3' $\Psi\beta$, gene β e 3' β). Para a análise estatística foram utilizados os testes Mann-Whitney e ANOVA. Foram encontradas 16 (31,37%) amostras heterozigotas para as mutações de PHHF e 18 (35,29%) apresentaram o sítio polimórfico *Xmn* I. Em relação aos haplótipos β -globina, foram verificados 18 padrões diferentes de combinação polimórfica, sendo cinco (27,77%) típicos (I, II, III, V e IX) e 13 (72,22%) atípicos (Atp1 a Atp13). Os haplótipos mais frequentes foram o V (27,45%), Atp2 (13,72%) e Atp1 (11,76%). A análise estatística não revelou diferença significativa entre os níveis médios de Hb F na presença dos haplótipos (V, Atp1 e Atp2) e de outros fatores genéticos conhecidos por influenciar o aumento dessa hemoglobina (mutações de PHHF e polimorfismo *Xmn* I) ($p=0,445$). Posteriormente, foi verificado se a presença de um dos fatores genéticos em relação ao haplótipo apresentava associação com os níveis aumentados de Hb F. No entanto, não foi verificada diferença estatística para os haplótipos V ($p=0,09$), Atp1 ($p=0,73$) e Atp2 ($p=0,20$). A análise da presença das mutações de PHHF e do polimorfismo *Xmn* I, com relação aos níveis de Hb F em cada um dos haplótipos, também não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,519$ e $p=0,603$, respectivamente). Os níveis elevados de Hb F encontrados na população amostrada não apresentaram associação com a presença de mutações de PHHF, do sítio polimórfico *Xmn* I e dos haplótipos β -globina (V, Atp1 e Atp2). Os achados desse trabalho reforçam o envolvimento de outros fatores genéticos que influenciam a expressão dos genes da γ -globina e, consequentemente, concentrações elevadas de Hb F na vida adulta. **Palavras-chave:** Hb F, haplótipos β -globina, polimorfismo *Xmn* I, PHHF. **Auxílio financeiro:** Capes, CNPq (130607/2009-6); Ministério da Saúde (3072/2007).

0170

Níveis médios de HB F em beta talassêmicos heterozigotos portadores de mutações no gene HFE

Ferreira MN¹, Salvarani M¹, Chinelato IS¹, Silva DG¹, Carrocini GC¹, Estevão IF², Ondei LS³, Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP

² Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP

³ Universidade Estadual de Goiás UEG, Porangatu, GO

A talassemia é um distúrbio monogênico decorrente de mutações pontuais, com redução parcial ou total das cadeias de globina alfa ou beta. O fenótipo da doença varia de anemia grave com característica microcítica e hipocrômica a indivíduos clinicamente assintomáticos. Os portadores de talassemia beta podem apresentar aumento de hemoglobina Fetal (Hb F), que reduz o desequilíbrio de cadeias do tipo alfa/não alfa e produz aumento na síntese de Hb total. O gene *HFE* está relacionado ao controle de ferro no organismo, por isso, as mutações existentes levam a desequilíbrio na absorção. Os objetivos deste trabalho foram verificar a frequência das mutações de beta talassemia e as do gene *HFE* (H63D e C282Y) em beta talassêmicos heterozigotos e a correlação entre a presença das mutações com os níveis de Hb F presentes. Foram utilizadas 139 amostras de sangue periférico de portadores de talassemia beta heterozigota. As amostras foram submetidas aos testes de triagem para diagnóstico de hemoglobinopatia análise cromatográfica para quantificação das frações. A extração de DNA genômico foi realizada por meio de fenol-clorofórmio. A genotipagem dos talassêmicos foi definida em análise molecular por PCR-AE. A análise do gene *HFE* foi realizada por PCR-RFLP. Para a estatística foi utilizado o *software* BioEstat 5.0 e os testes realizados foram Kruskal-Wallis complementado por Dunn, ANOVA

e χ^2 . Das 139 amostras analisadas, foram encontrados 90 indivíduos (64,74%) portadores da mutação CD39, 40 (28,77%) portadores da mutação IVSI-110 e nove (6,47%) heterozigotos para a mutação IVSI-6. Os níveis médios de Hb F para os portadores da mutação CD39 foram maiores (1,76% \pm 1,90%) em relação aos portadores da mutação IVSI-110 (0,91% \pm 0,75%), mas não em relação à mutação IVSI-6 (1,2% \pm 0,99) ($p=0,02$). Quanto ao gene *HFE*, a mutação H63D foi mais frequente (25,89%) que a mutação C282Y (7,19%) nos pacientes avaliados. Na presença da mutação H63D os níveis médios de Hb F verificados foram 1,39% \pm 1,40%. Para a mutação C282Y foram 0,67% \pm 0,60% para a mutação C282Y. Dentre os indivíduos beta talassêmicos, os portadores da mutação CD39 apresentaram maior número de mutantes para o gene *HFE* (20 heterozigotos e quatro homozigotos para H63D, e sete heterozigotos para C282Y), seguido pela mutação IVSI-110 (12 heterozigotos para H63D e três heterozigotos para C282Y). No entanto, a análise estatística não revelou diferença significativa entre a presença das mutações H63D ($p=0,65$) e C282Y ($p=0,95$) nos beta talassêmicos heterozigotos. Os níveis médios de Hb F verificados nos indivíduos portadores das mutações CD39 e H63D (1,72% \pm 1,49%), CD39 e C282Y (0,72% \pm 0,64%), IVSI-110 e H63D (0,73% \pm 0,91%) e IVSI-110 e C282Y (0,53% \pm 0,61%), não apresentaram diferença estatística ($p=0,06$). O grupo de portadores de beta talassemia heterozigota analisados apresentam maior frequência da mutação CD39 com níveis médios de Hb F mais elevados. Para o gene *HFE*, a mutação H63D foi mais. Não houve diferença estatística entre os níveis médios de Hb F na presença das mutações de beta talassemia e do gene *HFE*. **Palavras-chave:** beta talassemia, hemoglobina fetal, controle de ferro **Auxílio financeiro:** Ministério da Saúde (3072/2007), Capes, PIBIC

0171

Co-herança da talassemia alfa e da triplicação dos genes alfa em pacientes com talassemia beta provenientes do Estado do Rio Grande do Norte

Fernandes TA^{1,2}, Alves JJ³, Nascimento AN³, Cruz MS³, Silveira ZM³, Bezerra CM³, Rebecchi IM³, Sonati MF², Medeiros TM³

¹ Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, Mossoró, RN

² Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

³ Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, RN

As talassemias se constituem em um grupo de doenças genéticas caracterizadas pelo desequilíbrio na síntese de cadeias globínicas que formam a hemoglobina. Na talassemia beta, mutações diversas causam redução na síntese das globinas beta, fazendo com que as cadeias do tipo alfa, produzidas em taxas normais, fiquem em excesso relativo, podendo se precipitar nos precursores eritróides, danificar a membrana e provocar destruição celular prematura. A gravidade da doença correlaciona-se, assim, com o grau de desequilíbrio existente entre a produção de cadeias alfa e beta. Alguns estudos têm observado que a presença de fatores que afetem este desequilíbrio, como a co-herança da talassemia alfa ou a triplicação do gene alfa ($\alpha\alpha$), estão associados a quadros clínico-laboratoriais mais leves ou mais severos da talassemia beta. O presente trabalho teve como objetivo determinar a frequência da talassemia alfa (deleção $-\alpha^{3,7}$) e da triplicação do gene alfa ($\alpha\alpha^{anti3,7}$) em pacientes com talassemia beta. Foram analisados 64 pacientes (20 do sexo masculino e 44 do sexo feminino) com idade variando de 1 a 73 anos (média de 53 anos), não aparentados e naturais do estado do Rio Grande do Norte, com diagnóstico laboratorial de talassemia beta baseado na concentração de Hb A2 acima de 3,5%. De cada paciente foram coletadas alíquotas de sangue periférico e, após extração do DNA genômico, foi realizada a pesquisa molecular das mutações IVS-I-1 e IVS-I-6 por PCR/RFLP, e detecção molecular da talassemia alfa (deleção

$-\alpha^{3,7}$) e da triplicação dos genes alfa ($\alpha\alpha^{anti3,7}$) pela técnica de GAP-PCR. A mutação IVS-I-1 foi detectada na forma heterozigota em 21 pacientes (32,8%), enquanto que a IVS-I-6 foi identificada em 26 (40,6%), sendo 19 heterozigotos e 7 homozigotos. Além disso, 4 (6,2%) pacientes apresentaram as mutações IVS-I-1 e IVS-I-6, simultaneamente, e 13 (20,3%) indivíduos não apresentaram nenhuma das mutações investigadas. A pesquisa do *status* dos genes alfa nos pacientes do estudo, por sua vez, revelou que 5 (7,8%) pacientes apresentavam co-herança da talassemia alfa (deleção $-\alpha^{3,7}$), enquanto que outros 3 (4,7%), tinham a triplicação do gene alfa ($\alpha\alpha^{anti3,7}$). Embora os Resultados evidenciem uma frequência razoável da co-herança, faz-se necessário a análise de um número maior de pacientes para se chegar a um resultado mais conclusivo bem como analisar a influência destes fatores genéticos no quadro clínico-laboratorial do indivíduo com talassemia beta. **Suporte financeiro:** CNPq

0172

Ocorrência de necrose óssea em portadores da anemia falciforme e sua relação com o polimorfismo -509c/t (TGFB)

Torres LS¹, Zamaro PJ², Belini-Junior E¹, Lobo CL³, Queiroz AM³, Ruiz MA⁴, Bonini-Domingos CR¹

¹ Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP

² Ministério da Saúde, Brasília, DF

³ Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

⁴ Hospital Beneficência Portuguesa

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma doença inflamatória crônica cujas manifestações fenotípicas são diversificadas e podem ser influenciadas por fatores genéticos, bioquímicos e ambientais. Dentre as inúmeras complicações da doença, observam-se complicações ósseas, que podem aparecer, geralmente, em decorrência de episódios vaso-oclusivos, e também devido à hemólise e infecção. O TGF- β (fator beta transformante do crescimento) é uma citocina relacionada ao crescimento, desenvolvimento, adesão e transformação celular, reparo tecidual, modulação de respostas inflamatórias e angiogênese. A expressão de TGF- β pode ser regulada por polimorfismos no gene *TGFB*, como o polimorfismo -509C/T (rs1800469), com o alelo T aumentando a transcrição do gene e consequentemente os níveis plasmáticos da citocina. **Objetivo:** avaliar a frequência do polimorfismo -509C/T (*TGFB*) em portadores da AF e a sua influência na ocorrência de necrose óssea nesses indivíduos. **Métodos:** Foram analisadas 100 amostras de sangue periférico de pacientes adultos com AF provenientes do HEMORIO, cujo genótipo foi confirmado por testes clássicos de triagem e biologia molecular. As amostras foram submetidas à identificação do polimorfismo -509C/T (*TGFB*), por meio da técnica de PCR-RFLP. Os dados clínicos sobre a ocorrência de necrose de fêmur e úmero foram obtidos a partir de prontuários médicos por intermédio dos clínicos responsáveis. A associação da ocorrência de necrose óssea na presença e ausência do polimorfismo foi realizada pelo teste de *Odds Ratio* utilizando-se o *software Statistica 10.0*. **Resultados:** A frequência genotípica para o polimorfismo estudado foi de 44% de heterozigotos e 7% de homozigotos para a mutação, perfazendo uma frequência alélica de 0,71 para o alelo C e 0,29 para o alelo T. Foram encontrados 23 pacientes com histórico de necrose óssea, dos quais 16 (70%) eram portadores do alelo C em homozigose. A análise de *Odds Ratio* revelou a existência de risco relativo ao desenvolvimento de necrose óssea na presença do alelo C (OR=3,05; 1,13 \leq IC 95% \leq 8,25; $p=0,04$). Esses achados sugerem que a mutação para o alelo T pode estar associada à menor ocorrência de necrose óssea nesses pacientes, devido, possivelmente, ao efeito do alelo mutante na elevação dos níveis

plasmáticos de TGF- β , potencializando seu efeito angiogênico e de reparo tecidual, no controle da expressão de proteínas de matriz, responsáveis pela reconstrução óssea. **Conclusão:** A presença do polimorfismo -509C/T (TGFB) pode representar um efeito benéfico para pacientes com AF, em relação à ocorrência de necrose de fêmur e úmero. **Palavras-chave:** necrose avascular; doença falciforme; angiogênese. **Auxílio financeiro:** CAPES, FUNDARJ, Ministério da Saúde, CNPq

0173

Anemia hemolítica auto-imune associada a calazar: relato de caso

Bezerra ED, Yamakawa PE, Fonseca GH, Suganuma LM, Gualandro SF

Universidade de São Paulo – USP

Introdução: O calazar- leishmaniose visceral é uma infecção parasitária intracelular que se multiplica nos macrófagos existentes no fígado, baço e medula óssea, com uma incidência estimada de 500.000 casos novos por ano no mundo. A anemia presente nesses casos é uma manifestação comum e de origem multifatorial, porém anemia hemolítica auto-imune tem sido raramente descrita. **Objetivo:** Relatar caso de homem com apresentação de anemia com TAD positivo cujo diagnóstico foi leishmaniose visceral. **Relato de Caso:** Paciente masculino de 20 anos, previamente hígido, natural da Bahia; internado para investigação de quadro clínico de dois meses de síndrome consumptiva com perda ponderal de 8kg, febre diária, astenia, dispnéia aos esforços e palpitações. Ao exame físico apresentava-se descorado, febril, taquicárdico, exame abdominal com espaço de Traube ocupado à percussão. Exames mostrando pancitopenia com Hb 5,4 VCM 104 Leuco 2570 Neutrófilos 500 Eosinófilos 0 Linfócitos 1500 Monócitos 500 Plaquetas 63 mil, Reticulócitos 8,9% e exames sugestivos de hemólise: DHL 1006, Haptoglobina 6. TAD positivo com presença de IgG. Com a hipótese de anemia hemolítica auto-imune, foi iniciado prednisona 1mg/kg, porém sem melhora do quadro clínico e laboratorial. Realizada investigação com mielograma, que mostrou-se hiperplasmática às custas de série vermelha e megacariocítica, com plasmocitose e aumento da atividade macrofágica. Testes para auto-imunidade negativos. Tomografias mostrando somente esplenomegalia volumosa. Diagnosticado leishmaniose visceral por presença de amastigotas em amostra de medula óssea e Antígeno K39 positivo no sangue periférico. Iniciado tratamento com anfotericina B lipossomal, evoluindo com melhora clínica e recuperação do quadro de pancitopenia. **Discussão:** A leishmaniose visceral é uma infecção sistêmica com quadro clínico muitas vezes grave e caracterizado por febre intermitente, hepatoesplenomegalia, pancitopenia e hipergamaglobulinemia. A anemia presente nesta doença frequentemente é severa e deve-se a múltiplos fatores, entre eles diseritropoese, sequestro esplênico, estado pró-inflamatório, alteração na permeabilidade da membrana da hemácia e mecanismos imunes. Anemia hemolítica coombs positiva tem sido descrita associada a alguns casos de calazar, provavelmente relacionada à formação de autoanticorpos por ativação policlonal de linfócitos B. Assim, deve-se considerar a hipótese de calazar em pacientes provenientes de área endêmica que apresentam-se com hepatoesplenomegalia associada a pancitopenia e anemia hemolítica auto-imune, tendo esta boa resposta com o tratamento da doença de base.

0174

Principais alterações renais e seu tratamento em pacientes com anemia falciforme

Barbosa FM¹, Silva PR¹, Silva DV¹, Rocha GP¹, Santana LC¹, DuMont SV¹, Nicolau DI²

¹ Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luis, MA

² Supervisão de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), São Luis, MA

Introdução: A anemia falciforme é uma doença hematológica hereditária, a qual é caracterizada pela prevalência de hemoglobina S, devido a substituição do ácido glutâmico pela valina. Tal mudança estrutural faz com que ocorra alteração na conformação das hemácias quando estas circulam em meio hiperosmolar e de hipóxia. Dessa forma, a anemia falciforme torna o indivíduo predisposto ao aumento da viscosidade sanguínea, fenômenos vaso oclusivos e hemólise, que causam danos em vários tecidos do organismo, inclusive o renal. Apesar de pouco discutidas, alterações renais são frequentes em falcêmicos, representadas por um amplo espectro de sinais e sintomas. **Objetivos:** Analisar as principais alterações renais ocorrentes em pacientes com anemia falciforme e as opções de tratamento descritas na literatura. **Métodos:** Análise de artigos científicos, através dos bancos de dados como MEDLINE, LILACS, SCIELO e PUBMED. **Resultados:** A medula renal apresenta um ambiente propício a falcização, facilitando a ocorrência de fenômenos vasoocclusivos na microcirculação renal, os quais levam a ocorrência de alterações estruturais e funcionais. Dentre as alterações estruturais encontram-se a dilatação dos glomérulos, com hiperplasmática e hipertrofia, como nas glomerulonefrites proliferativas; além de fibrose, oclusão da vasa recta e lesão nos túbulos renais. Hipostenúria, hematuria, secreção inadequada de eritropoietina, disfunções hemodinâmicas e proteinúria, a qual pode evoluir para síndrome nefrótica, são manifestações clínicas clássicas do acometimento renal em pacientes falciformes. Nota-se um aumento na taxa de filtração glomerular em pacientes pediátricos e adultos jovens, fato que torna o *clearance* de creatinina improprio para avaliar a função renal nesses pacientes. Entretanto, com o envelhecimento essa taxa tende cair para valores abaixo do normal, podendo levar a falência renal crônica e até a necessidade de transplante renal. Ocorre hipersecreção de creatinina e ácido úrico, com reabsorção aumentada de fosfatos e beta-2-microglobulina, o que caracteriza alteração em túbulo proximal. A microalbuminúria tem sido relatada como o teste mais sensível na detecção precoce de disfunções renais em pacientes falciformes, mas os estudos ainda são inconclusivos. Inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) mostraram eficácia no controle da proteinúria, entretanto não é comprovada sua utilidade como fator de prevenção ou de estabilização da progressão para insuficiência renal. A anemia falciforme também torna o indivíduo mais vulnerável a infecções do trato urinário. **Conclusão:** Viu-se, portanto, que a anemia falciforme pode levar tanto alterações morfológicas quanto funcionais no tecido renal. A detecção precoce dessas é necessária para evitar desenvolvimento de insuficiência renal crônica e outras complicações, entretanto ainda não existe consenso quanto ao teste de triagem adequado. Também são controversas as opções de tratamento ou prevenção dos eventos renais na anemia falciforme. Percebe-se, desta forma, a necessidade de desenvolvimento de estudos mais detalhados nessa área e também de uma maior atenção do hematologista.

0175

O papel do assistente social do hemopa no processo de construção e (Re) construção do controle social dos usuários com patologias hematológicas

Ferreira VS, Almeida HJ, Pereira LM

Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – Hemopa, Belém, PA

Introdução: Controle Social e Participação Social tem recebido merecida atenção por parte dos (das) assistentes sociais que desenvolvem seu processo de trabalho no campo da saúde, compreendendo a importância da participação dos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS) em busca de garantia de direitos e atendimento de suas necessidades de forma qualitativa. Neste sentido, as assistentes sociais do HEMOPA vêm contribuindo no processo de construção e (re) construção de associações de usuários com patologias hematológicas, possibilitando assim, uma maior compreensão por parte dos mesmos sobre a importância da união, do diálogo entre usuários, profissionais e instituição ao se pensar em qualidade de vida e garantia de direitos. A saúde, conforme o instituído na Constituição Federal do Brasil de 1988, deixa de ser interesse apenas dos técnicos para assumir uma dimensão política, estando estritamente vinculada à democracia. Para tanto, a participação dos sujeitos atendidos pelo SUS é de suma importância nesse processo. A participação social, ou seja, o controle social exercido pelas entidades que representam os usuários do SUS possibilita tanto o fortalecimento dos usuários como do poder público, posto que, o objetivo final é a dignidade da pessoa humana. O assistente social tem o dever de informar e orientar os sujeitos dos serviços sobre a importância do controle social. **Objetivo:** Refletir sobre o papel do assistente social no processo de construção e (re) construção do controle social por parte dos usuários com patologias hematológicas atendidos no ambulatório do HEMOPA. **Métodos:** Para despertar a necessidade de efetivação do controle social por parte dos usuários dos serviços ambulatoriais do HEMOPA, foram realizadas pelas assistentes sociais do ambulatório recorrentes informações e orientações sobre a importância da criação de associação. Assim como, Oficinas de Como constituir uma Associação e a importância desta na vida dos cidadãos que realizam tratamento de saúde. Vale ressaltar a participação dos representantes das associações de maior destaque no Estado do Pará, assim como, a participação dos gestores e dos referidos usuários do HEMOPA nestes eventos. **Resultados:** Como resultado deste processo, foram constituídas duas associações: ASPAHC (Associação Paraense de Hemofílicos e Coagulopatias Hereditárias) e APADFAL (Associação Paraense de Pessoas com Doença Falciforme), entidades estas que ratificam o interesse e a responsabilidade com a saúde, com a transparência e qualidade dos serviços prestados aos usuários por parte dos gestores e demais profissionais de saúde da Fundação HEMOPA. Vale inferir que as duas associações estão em processo de legalização. **Conclusão:** O assistente social inserido no campo da saúde deve articular seu fazer profissional aos princípios dos Projetos da Reforma Sanitária e Ético-Político do Serviço Social, podendo assim, responder de forma qualificada às necessidades apresentadas pelos usuários. Estando pois, articulado ao movimento dos usuários que lutam pela efetivação do SUS, construindo um projeto democrático e de direito. E, é sem dúvida, neste cenário que o assistente social do ambulatório do HEMOPA realiza seu processo de trabalho.

0176

Gene expression profile in blood outgrowth endothelial cells from patients with sickle cell anemia suggests a proinflammatory and proadhesive phenotype

Sakamoto TM, Ozelo MC, Yotsumoto KF, Lanaro C, Saad ST, Conran N, Costa FF

Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

The clinical hallmark of sickle cell anemia (SCA) is vaso-occlusive crises, triggered by red blood cells stiffening and abnormal adhesion to vascular endothelial cells, associated with chronic inflammation, cell activation, and vascular tone abnormalities. Damaged or activated endothelium abnormally displays adhesion molecules such as *ICAM-1*, produces inflammatory mediators like IL-6 and *CCL5* and acquires a procoagulant phenotype. Blood Outgrowth Endothelial Cells (BOECs) are circulating endothelial cells, isolated from the peripheral blood of adults, which have a high proliferative capacity, *in vitro*, with the characteristic phenotype of mature cells. This study aimed to determine differences in the genetic expression of endothelial cells of SCA individuals, using BOECs as a study model. BOECs, isolated from adult patients with SCA (n=2) and from healthy controls (CON, n=2), were cultured for around 45 days and cells identified by multicolor flow cytometry as CD31+/CD146+/VEGF R2+/CD45-/CD133- endothelial cells. BOECs in basal culture conditions and following treatment with 10ng/ml TNF- α for 3 hours were then analyzed on a PCR array platform (Endothelial Cell Biology, Qiagen) to screen for 84 genes involved in angiogenesis, coagulation, cell adhesion and inflammation. PCR Array results were further validated by real time quantitative PCR. PCR Array analysis demonstrated overexpression of genes involved in inflammation (*IL6* = 26.73 fold change, *CCL5* = 4.47 fold change), cell adhesion (*ICAM1* = 10.296 fold change, *SELPG* = 3.33), angiogenesis (*MMP-9* = 7.58 fold change, *FGF2* = 8.79) and platelet activation (*PLG* = 2.18) in SCA BOECs when compared with CON BOECs. TNF- α stimulation increased these expressions in SCA BOECs (*IL6* = 4.39 fold change, *CCL5* = 4.38 fold change, *ICAM-1* = 4.35 fold change, *SELPG* = 4.48 fold change, *MMP-9* = 3.66 fold change, *FGF2* = 8.16 fold change, *PLG* = 2.07 fold change). Three genes (*IL6*, *CCL5* and *ICAM1*) were selected for validation by real time PCR. We confirmed that SCA BOECs (n=5) overexpressed these genes when compared with CON BOECs (n=4) (*IL6* = 2.79 fold change; *CCL5* = 18.93 fold change and *ICAM1* = 4.53 fold change). TNF- α stimulation of SCA BOECs also confirmed the same tendency (*IL6* = 1.96 fold change, *CCL5* = 2.78 fold change, *ICAM-1* = 1.19 fold change). BOECs represent an *in vitro* model of non-stimulated endothelial cells, i.e. not under inflammatory or cell adhesion stress. Our results show that BOECs from SCA patients present an inflammatory-driven gene expression profile both in the absence and presence of stimulus. Data suggest that endothelial cells in SCA *in vivo* might exhibit gene expressions favoring inflammation, cell adhesion, angiogenesis and coagulation per se. Support by FAPESP and CNPq.

0177

Relação entre polimorfismos da enzima glutatona s-transferase e marcador de genotoxicidade em pacientes com anemia falciforme

Oliveira RG¹, Barberino WM¹, Belini-Júnior E¹, Silva DG¹, Lobo CL², Bonini-Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP

² Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Palavras-chave: Anemia falciforme, glutationa S -transferase, micronúcleos

A anemia falciforme (AF) é uma anemia hemolítica hereditária causada por mutação pontual (GAG – GTG) no sexto códon do gene β globina, resultando na síntese da hemoglobina (Hb) S. Em condições de hipóxia e/ou acidose essas hemoglobinas se polimerizam, conferindo ao eritrócito um aspecto falcizado. Durante esse processo, espécies reativas de oxigênio (ERO) são geradas e culminam no estabelecimento de estresse oxidativo que promove a oxidação de lipídeos, proteínas e DNA. Micronúcleos (MN) são pequenas inclusões de DNA que permanecem nos eritrócitos após sua maturação, resultante da quebra de fitas duplas ou de braços cromossômicos, e podem estar associados a efeitos genotóxicos e citotóxicos de ERO. Uma das enzimas detoxificantes mais estudadas em diferentes organismos é a glutationa S -transferase (GST), que pertence a uma família de enzimas que catalisa a conjugação da molécula de glutationa e possui papel fundamental em mecanismos de defesa contra compostos endo e xenobióticos. Com esse trabalho objetivamos relacionar a presença dos polimorfismos *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* com a frequência de micronúcleos em pacientes com anemia falciforme. Foram avaliadas 42 amostras de sangue periférico de pacientes adultos com AF. A genotipagem dos polimorfismos foi feita por PCR-RFLP para o gene *GSTP1*; enquanto que para genes *GSTM1* e *GSTT1* foi realizado PCR-MULTIPLIX. Para a contagem dos MN as amostras foram submetidas a esfregaços sanguíneos e, posteriormente, coradas com panótico para análises sob microscopia de luz em aumento de 1000X. Os dados de MN foram avaliados seguindo a razão: nº de micronúcleos/3000 células. Foram excluídos da análise os pacientes que faziam uso de hidroxiureia, por ser agente genotóxico. A normalidade e homogeneidade das variáveis foram testadas e as médias, entre os grupos, comparadas por meio de teste ANOVA, complementado *post hoc* pelo teste de Fisher. Os dados de MN foram expressos como média \pm desvio padrão e o nível de significância foi fixado em $p < 0,05$. A análise comparativa dos dados de MN entre os genótipos de cada polimorfismo demonstrou que, para *GSTM1* e *GSTT1*, os genótipos M/M (3,8 \pm 2,7), T/T (4,4 \pm 3,5), M/T (3,6 \pm 2,4) e nulo (3,75 \pm 2,63), não houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,911$). No entanto, para os genótipos do polimorfismo *GSTP1*, I/I (3,4 \pm 2,0), I/V (3,0 \pm 2,4) e V/V (6,9 \pm 3,1), demonstraram que os homocigotos mutantes para este polimorfismo (V/V) apresentaram aproximadamente o dobro de MN que os demais genótipos, I/I e I/V ($p = 0,002$). Ressaltamos que não foi possível realizar a análise da combinação dos polimorfismos, pois os subgrupos apresentariam $n < 3$. Esses Resultados permitem concluir que a presença de mutação em homocigose para o polimorfismo *GSTP1* (V/V), em pacientes com AF, resultando na produção da enzima com atividades funcionalmente diferentes, está associada ao aumento do número de micronúcleos, indicando que a atividade dessa enzima pode estar relacionada à detoxificação de produtos do estresse oxidativo que contenham potencial efeito genotóxico e citotóxico. **Agradecimentos:** à FAPESP pelo auxílio financeiro (Proc. nº 2012/04768-8).

0178

Estudo dos marcadores de inflamação: correlação com os haplótipos e tratamento com hidroxiuréia na anemia falciforme

Filho PAM, Gonalves RP, Laurentino MR, Barbosa MC, Bandeira IC, Machado RP, Dutra LL, Araujo TD, Santos TN, Diniz DD

Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

A anemia falciforme (AF) é o resultado de uma mutação pontual no códon do gene da β -globina, sendo caracterizada pela homocigose da hemoglobina S (HbS). Dentre os fatores que modulam

a severidade da AF estão os níveis de hemoglobina fetal (HbF), os haplótipos associados ao gene da HbS e a coexistência de α -talassemia. Níveis elevados de HbF estão associados a uma diminuição de moléculas de adesão e de citocinas pró-inflamatórias e aumento da síntese de óxido nítrico (NO), o que diminui o quadro inflamatório, com consequente melhora do quadro clínico. O objetivo do presente estudo foi de avaliar o perfil dos marcadores inflamatórios e sua correlação com os níveis de hemoglobina fetal em pacientes adultos portadores de AF. Trata-se de um estudo transversal em que foram incluídos 40 pacientes, adultos, com idade variando de 21 a 65 anos (média de 37 anos), de ambos os sexos, com diagnóstico clínico, laboratorial e molecular de anemia falciforme, em uso de hidroxiuréia (HU) e atendidos no ambulatório do serviço de Hematologia do Hospital Universitário Walter Cantídio em Fortaleza-Ceará. Os pacientes foram estratificados de acordo com os níveis de HbF em: HbF \leq 5 (n=7), >5 HbF < 10 (n= 13) e HbF ≥ 10 (n=20). As citocinas IL-6 e TNF- α foram determinadas pelo método de ELISA. O GraphPad Prism 5.0 foi o programa utilizado para a análise estatística. Utilizou-se o teste Kruskal-Wallis seguido do pós-teste Dunn's e o teste de correlação de Spearman. O nível de significância estabelecido foi $p < 0,05$. Houve uma tendência dos valores de IL-6 e TNF- α de diminuir com a elevação dos níveis de HbF, no entanto, a diferença não foi significante. O teste de correlação mostrou que os valores de HbF relacionaram-se negativamente com os valores de IL-6 ($p < 0,05$). Não houve correlação significante entre os valores de HbF e TNF- α ($p > 0,05$). Os Resultados do estudo mostram que os níveis de IL-6 diminuiram com o aumento de HbF, o que já era esperado, visto que o aumento da HbF leva a uma diminuição dos níveis de citocinas pró-inflamatórias. **Apoio financeiro:** FUNCAP, PIBIC-CNPq/UFC

0179

Caracterização do gene HFE em pacientes com beta talassemia intermédia com sobrecarga de ferro

Pessoa VL¹, Belini-Júnior E², Carrocini GC², Lobo CL¹, Bonini-Domingos CR²

¹ Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

² Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP

A beta talassemia é uma doença hereditária, causada por mutações no gene da beta-globina e caracterizada pela ausência parcial ou total da síntese da cadeia beta, com consequente anemia, muitas vezes dependente de transfusões de sangue. O número de transfusões no decorrer da vida, além de fatores genéticos como, por exemplo, mutações no gene *HFE*, podem levar a sobrecarga de ferro, que é uma das principais causas de mortalidade e morbidade. Mesmo em pacientes que normalmente não recebem transfusões de sangue, observa-se sobrecarga de ferro que ocorre, principalmente, devido ao aumento da absorção intestinal e pode resultar em um quadro clínico grave. Os Objetivos desse trabalho foram avaliar os níveis de ferritina sérica e a sobrecarga de ferro cardíaco e hepático em pacientes portadores de beta talassemia intermédia e relacionar esses dados com o número de transfusões sanguíneas e a presença de mutações no gene *HFE*. Foram analisados oito pacientes com diagnóstico clínico de beta talassemia intermédia em acompanhamento no Hemorio-RJ. A sobrecarga de ferro cardíaco e hepático foi avaliada pela técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) – T2* e os níveis de ferritina foram obtidos por imunoenensaio. As mutações C282Y, H63D e S65C no gene *HFE* foram investigadas por PCR-RFLP. Os níveis de ferritina estavam acima de 1000 ng/mL para sete pacientes avaliados. Em relação à sobrecarga de ferro, foi verificada sobrecarga grave de ferro cardíaco (T2* = 9,37ms) e hepático (LIC = 16,24 mg/g

e $T2^*=1,68$ ms) em apenas um paciente que havia recebido sete unidades de concentrado de hemácias. Os demais pacientes apresentaram sobrecarga de ferro hepático variando de moderada a grave e também ausência de sobrecarga de ferro cardíaco. Em relação às mutações no gene *HFE*, todos os pacientes apresentaram heterozigose para a mutação H63D. A mutação S65C, que foi encontrada em dupla heterozigose com a mutação H63D, foi verificada apenas no paciente com sobrecarga grave de ferro hepática e cardíaca. A mutação C282Y não foi verificada em nenhum dos pacientes analisados. Os pacientes beta talassêmicos intermédios apresentam sobrecarga de ferro hepática variando de moderada a grave e heterozigose para a mutação H63D no gene *HFE*. A presença de sobrecarga grave de ferro hepática e cardíaca verificada em um dos pacientes pode ser resultado da dupla heterozigose das mutações H63D e S65C no gene *HFE*, evidenciando a influência de fatores genéticos na sobrecarga de ferro, mesmo em pacientes que recebem um número baixo de concentrados de hemácias. **Palavras-chave:** beta talassemia intermédica, gene *HFE*, sobrecarga de ferro.

0180

Frequência das mutações H63D e C282Y no gene *HFE* em anemia falciforme, beta talassemia heterozigota e em indivíduos sem hemoglobinopatias

Salvarani M¹, Ferreira MN¹, Chinelato IS¹, Carrocini GC¹, Lobo CL², Bonini-Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP

² Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

A hemoglobina S (HbS) é causada por uma mutação no gene da *beta globina* e a forma mais grave da doença, a anemia falciforme, é caracterizada pela presença do alelo mutado em homozigose (Hb SS). Por sua vez, a talassemia beta é decorrente de alteração quantitativa na síntese da *beta globina*, resultando em anemia de característica microcítica e hipocrômica. Dentre as consequências ocorridas nestas afecções está a sobrecarga de ferro, proveniente do intenso processo de hemólise das células e transfusões. O gene *HFE* está envolvido no metabolismo do ferro e mutações nesse gene afetam a absorção desse elemento que se acumula no organismo levando a danos nos órgãos. O objetivo deste trabalho foi verificar a frequência das mutações H63D e C282Y no gene *HFE* em pacientes com anemia falciforme, portadores de talassemia beta heterozigota e grupo controle sem hemoglobinopatias. Foram analisadas 587 amostras de sangue periférico de indivíduos adultos com anemia falciforme, 61 amostras de portadores de talassemia beta heterozigota e 104 amostras do grupo controle, totalizando 830 amostras. Todas as amostras foram submetidas aos testes clássicos de triagem para hemoglobinopatias e análise cromatográfica por HPLC. A análise molecular para a HbS e para as mutações no gene *HFE* foi realizada por PCR-RFLP, e a genotipagem dos talassêmicos foi realizada por PCR-AE. As mutações H63D e C282Y foram encontradas em maior número nos pacientes com anemia falciforme (65,41%), seguido pelos portadores de beta talassemia heterozigota (33,09%) e indivíduos do grupo controle (31,73%). Nos três grupos avaliados a mutação H63D esteve mais presente que a C282Y (52,04% e 3,73%, respectivamente). Nos pacientes com anemia falciforme foram encontrados 360 (61,3%) heretozigotos e nove (1,5%) homozigotos para a mutação H63D, e 15 (2,55%) heterozigotos para a mutação C282Y. Dentre os portadores de beta talassemia, 32 (23%) apresentaram perfil heterozigoto e quatro (2,8%) homozigotos para a mutação H63D, e 10 indivíduos (7,1%) foram heterozigotos para a C282Y. No grupo controle,

26 indivíduos (25%) foram heterozigotos para a mutação H63D, um indivíduo (0,9%) apresentou perfil homozigoto para a mutação H63D e seis indivíduos (5,7%) foram heterozigotos para a mutação C282Y. A mutação C282Y não foi encontrada em homozigose nos grupos avaliados. A diferença encontrada em relação à presença das mutações H63D e C282Y nos portadores de anemia falciforme, beta talassemia heterozigota e indivíduos sem alterações de hemoglobinas pode estar relacionada aos diferentes grupos étnicos envolvidos na formação das populações analisadas, reforçando a influência da miscigenação da população brasileira. Nossos Resultados mostram a necessidade de maiores estudos sobre a relação entre as mutações de hemoglobinas e as no gene *HFE*, para entendimento do perfil de ferro nesses pacientes. **Palavras-chave:** HbS, beta talassemia heterozigota, gene *HFE* **Apoio financeiro:** Ministério da Saúde, FUNDARJ, FAPESP, CAPES.

0181

Complicações clínicas e obstétricas de gestantes com doença falciforme

Ladeira S, Silva-Pinto AC, Santis GC, Brunetta DM, Angulo IL, Covas DT

Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Introdução: Até a década de 70, o manejo das gestantes com doença falciforme (DF) era precário, e a gestação estava associada a altas taxas de morbi-mortalidade materna e fetal. Atualmente, com a triagem neonatal, a antibioticoprofilaxia e a melhora na qualidade dos cuidados obstétrico e neonatal houve uma redução expressiva da frequência e gravidaded das complicações materno-fetais. **Objetivo:** verificar a evolução das gestações em pacientes falciformes durante um período de 12 anos. **Métodos:** este estudo retrospectivo avaliou 34 gestantes com DF seguidas no ambulatório de hemoglobinopatias do HCFMRP-USP, Ribeirão Preto-SP, com história obstétrica entre janeiro de 2000 até junho de 2012. Os dados clínicos e os Resultados dos exames laboratoriais foram obtidos dos prontuários médicos. **Resultados:** 34 gestantes com DF (24 SS, 7 Sbeta e 3 SC) e um total de 38 gestações foram analisadas. Nove pacientes (26,4%) relataram abortamento anterior, 8 (20%) tiveram trabalho de parto prematuro, 4 (10%) tiveram pré-eclâmpsia, 2 (5%) evoluíram com diabetes gestacional. Quatorze pacientes (41,1%) foram submetidas a parto cesariana; e 13 pacientes (32,5%) necessitaram de transfusão de hemácias no período periparto, sendo que uma delas apresentou síndrome de hiper-hemólise. Das complicações não obstétricas da DF, 21 (61,7%) tiveram crises vaso-oclusivas; 10 (29,4%), síndrome torácica aguda; 8 (23,5%) apresentaram infecção urinária; 5 (14,7%) pioraram a função cardíaca; e 2 (5,8%) desenvolveram hipertensão pulmonar. Apenas uma paciente (2,9%), com anemia falciforme, morreu no puerpério imediato devido a síndrome torácica aguda. A idade gestacional média dos recém-nascidos (RN) foi de 37,8 \pm 2,63 semanas, com peso médio de 2.809 \pm 643,8 gramas; 11 RNs (27,5%) tiveram Apgar no primeiro minuto abaixo de 7. Houve 7 (17,3%) perdas fetais, incluindo 3 óbitos (7,7%) e 4 abortamentos (10,2%). **Conclusões:** Ao compararmos nossos Resultados com um trabalho brasileiro publicado em 2010 por Nomura *et al.*, observamos que a taxa de óbito materno foi semelhante (2,9 x 3,9%), apesar das diferenças na taxa de complicações obstétricas, como pré-eclâmpsia (10 x 21,6%) e parto cesárea (41,1 x 84,3%). A maior diferença ocorreu na análise das características fetais, como idade gestacional ao parto (37,8 x 35,2 semanas), peso abaixo de 2.500 g ao nascer (25 x 62,7%) e óbito fetal (7,7 x 11,8%). Nosso trabalho mostrou que apesar de todos os avanços da medicina nas últimas décadas, a gestação ainda é associada a muitas complicações

clínicas e obstétricas nas pacientes falciformes, evidenciando a necessidade de um acompanhamento multidisciplinar dessas gestantes em um serviço de saúde de nível terciário. **Palavras-chave:** doença falciforme, gestação, complicações obstétricas.

0182

Caracterização e frequência dos haplótipos da globina beta-s em pacientes com anemia falciforme do Estado do Rio de Janeiro

Okumura JV¹, Belini-Junior E¹, Silva DG¹, Torres LS¹, Lobo CL², Bonini-Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP
² Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma doença monogênica caracterizada pela homozigose da hemoglobina S (Hb SS), que em determinadas condições, formam polímeros deformando os eritrócitos o que acarreta em fisiopatologia complexa e variada, modulada em parte pelos haplótipos da globina beta S (haplótipos β^S). Cinco haplótipos têm sido associados a diferentes grupos étnicos, de acordo com a região de origem e onde predominam, sendo eles: haplótipo Bantu, Benin, Senegal, Índia-Arábia Saudita (Saudi) e Camarões. Porém, devido a diferentes combinações polimórficas e a grande miscigenação, no Brasil ocorrem haplótipos que não se enquadram nesses padrões e são denominados atípicos. **Objetivo:** Caracterizar e avaliar a frequência dos haplótipos β^S em um grupo de pacientes com AF do Estado do Rio de Janeiro. **Métodos:** As amostras de sangue dos pacientes (n=790) foram submetidas à extração de DNA e posteriormente genotipadas para a confirmação da homozigose para a Hb S e então avaliadas quanto aos haplótipos β^S por PCR-RFLP. Os haplótipos foram classificados por análise de seis sítios polimórficos e aqueles que não possuíam o padrão clássico descrito foram nomeados de atípicos. **Resultados:** Dos 790 pacientes, 626 (79,24%) foram portadores da anemia falciforme (Hb SS) e destes 527 (84,18%) foram genotipados quanto aos haplótipos. Do total de 1054 alelos pesquisados, 767 (72,7%) foram Bantu, 214 (20,3%) Benin, 62 (5,9%) Atípicos, seis (0,56%) Camarões, três (0,28%) Saudi e dois (0,19) Senegal. Dez padrões de atípicos diferentes foram encontrados sendo 29 (-----), oito (-----+), seis (-+---+), quatro (-+---), quatro (-++-+), três (-----+), três (-+---), três (-+---+), um (-++-) e um (-++-+). **Conclusão:** A alta frequência alélica do haplótipo Bantu (72,7%), seguido do Benin (20,3%), indica que a maioria dos escravos que vieram para o Brasil foram originados da África Oriental e Centro-Sul e contribuíram na formação da população do Estado do Rio de Janeiro. Os haplótipos atípicos foram o terceiro mais frequente na população estudada (5,9%) e os dez padrões diferentes reforçam os dados de miscigenação na população devido a vários mecanismos genéticos, como a conversão gênica. Para melhor inferência do surgimento dos haplótipos atípicos, mais estudos são necessários. **Auxílio financeiro:** CAPES, FAPESP (2011/14168-5). **Palavras-chave:** Anemia falciforme, haplótipos, miscigenação **Apoio financeiro:** FUNDARJ (408/10)

0183

Frequências dos haplótipos beta-globina em indivíduos com talassemia beta heterozigota do Estado de São Paulo

Chinelato IS¹, Carrocini GC¹, Salvarani M¹, Ferreira MN¹, Ondei LS², Estevão IF³, Bonini-Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP

² Universidade Estadual de Goiás UEG, Porangatu, GO

³ Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP

A beta talassemia apresenta heterogeneidade molecular e expressão fenotípica variável. O tipo de variabilidade mais comum no complexo gênico das globinas é resultante do conjunto de polimorfismos em determinadas sequências. Esse padrão de combinação dos sítios polimórficos em qualquer cromossomo é chamado haplótipo. A análise dos haplótipos da família β -globina tem sido utilizada em estudos que envolvem a variabilidade genética e as relações entre as populações humanas. Esse trabalho teve como objetivo verificar as frequências dos haplótipos beta-globina em indivíduos com beta talassemia heterozigota do estado de São Paulo. Foram analisadas 108 amostras de sangue periférico. Todas as amostras foram submetidas aos testes clássicos de diagnóstico de hemoglobinopatias, análise cromatográfica por HPLC e análise molecular por PCR-RFLP. Nas 108 amostras (216 cromossomos) foram observados seis padrões típicos dos haplótipos da β -globina, de um total de nove possíveis e 13 padrões atípicos de haplótipos. Os haplótipos típicos foram observados em 84,26% do total (182 cromossomos) e os atípicos em 15,74% (34 cromossomos). Dentre os haplótipos típicos os mais frequentes foram o haplótipo II (37,91%); o haplótipo VII (34,06%) e em seguida o haplótipo I (16,48%). Os haplótipos menos frequentes foram os haplótipos IV e IX (4,40%) e o haplótipo VI (2,75%). Os haplótipos III, V e VIII não foram observados. Os dados obtidos nesse trabalho corroboram os achados de Orkin (1982), de maneira que a frequência individual dos haplótipos nos cromossomos de beta talassêmicos de origem mediterrânea varia de 1% a 47%, com maior frequência dos haplótipos I, II e V e menor frequência dos haplótipos IV e VIII. Nossos dados apontam os haplótipos I e II como os mais frequentes, enfatizando a influência dos alelos de origem mediterrânea na formação das populações do estado de São Paulo. As divergências encontradas reforçam a alta miscigenação verificada na população brasileira. **Palavras-chave:** haplótipos *beta globina*, talassemia beta heterozigota, polimorfismo. **Auxílio financeiro:** Ministério da Saúde (3072/2007), CAPES.

0184

Manifestações retinianas em portadores de hemoglobinopatias falciforme

Aguiar VP¹, Santana TG¹, Gaspar RS¹, Oliveira RC¹, Rocha GP¹, Silva PR¹, Nicolau DI²

¹ Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luis, MA

² Supervisão de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), São Luis, MA

Introdução: A anemia falciforme é caracterizada pela mutação no gene codificante da cadeia beta da hemoglobina, originando a produção da Hemoglobina S, responsável pelo processo de falcização sofrido pelas hemácias em ambientes de pH específico. Este processo reduz a elasticidade das hemácias, favorecendo o acontecimento de acidentes vasculares obstrutivos. O tecido ocular é especialmente sensível a tais acidentes. A microvasculatura retiniana tem destaque especial por apresentar maior risco

de comprometimento da visão do paciente. As alterações observadas na retina dividem-se em não-proliferativas e proliferativas. Classicamente, a retinopatia não-proliferativa caracteriza-se por achados como hemorragias pré-retinianas (“salmon patch”) e hiperpigmentações retinianas (“sunburst”), isquemia na periferia da retina, estrias angioides e alterações no nervo óptico. Já a retinopatia proliferativa segue uma sequência de eventos que se inicia com a obstrução dos microvasos retinianos, seguida de formação de novos vasos, podendo haver a estimulação de proliferação fibroglial no novo tecido graças à presença de áreas hemorrágicas, culminando em uma crescente tração no tecido retiniano que pode causar o descolamento da retina. Assim sendo, Goldberg classifica a retinopatia proliferativa em 5 estágios: 1-oclusão arteriolar periférica; 2-anastomoses arterio-venosas; 3-alterações neovasculares e fibrosas; 4-hemorragia vítrea; 5-descolamento de placenta. **Objetivos:** Identificar as alterações retinianas de maior prevalência em pacientes falciformes. **Métodos:** Foram analisados artigos da base de dados Google Acadêmico que incluíam os termos “manifestações retinianas anemia falciforme” e selecionados os de maior relevância constituindo uma população de 112 portadores de hemoglobinopatia falciforme. **Resultados:** O grupo em estudo era constituído por 59 pacientes do sexo masculino e 43 do sexo feminino. O tipo mais frequente de hemoglobinopatia falciforme nesse estudo foi a SS (76 pacientes), seguida pelos tipos SC(21), AS(8) e S-Thal (7). As alterações retinianas mais comuns em ordem decrescente de aparecimento foram: o aumento da tortuosidade vascular em 30 (26,7%) pacientes, pontos hiperpigmentados retinianos (“black sunburst”) em 18 (16%) pacientes, oclusão de vasos periféricos em 7(6%) pacientes, hemorragias pré-retinianas “salmon patch” em 5(4%) pacientes, neovascularização do tipo “sea fan”, hemorragia vítrea e descolamento de retina em 4(3%) pacientes cada, pontos iridescentes em 3(2%) pacientes e estrias angioides, anastomoses vasculares, arteriolas em fio-de-prata, branco sem pressão, palidez isolada do nervo óptico, lesão hiperpigmentada em retina inferior e neurorretinite subaguda unilateral em 1(0,8%) paciente cada. **Conclusão:** Evidenciou-se a maior prevalência da tortuosidade vascular em 30(26,7%) pacientes, um achado sem valor diagnóstico ou patológico. Dentre as alterações típicas da retinopatia não-proliferativa, o mais frequente foram os pontos hiperpigmentados retinianos (“black sunburst”) em 18(16%) pacientes e quanto aos achados típicos da retinopatia proliferativa o mais frequente foi o “sea fan” em 4(3%) pacientes. Recomenda-se então a realização de exames oftalmológicos em pacientes portadores de hemoglobinopatias falciformes de forma a identificar e tratar possíveis lesões.

0185

Anemia hemolítica autoimune: perfil clínico e epidemiológico de pacientes atendidos em hospital terciário de Porto Alegre

Breunig RC, Weber CS, Amaral SN, Oliveira MM, Furlanetto MA, Daudt LE

Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

Introdução: A anemia hemolítica auto-imune (AHAI) representa um espectro de desordens nas quais ocorre destruição precoce das hemácias mediada por auto-anticorpos fixados a antígenos da membrana eritrocitária. A incidência estimada encontra-se em 1-3 casos por 100.000 por ano. O tratamento de AHAI é essencialmente baseado em experiência, pois existem poucos ensaios clínicos desta patologia. **Métodos:** Foram avaliados 19 pacientes do Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre com AHAI, diagnosticados entre agosto de 2006 e julho de 2012. O diagnóstico de AHAI foi baseado no quadro de hemólise adquirida e confirmado por meio do teste de Coombs direto. Os dados

clínicos, laboratoriais e referentes à evolução dos pacientes foram obtidos retrospectivamente nos prontuários médicos. **Resultados:** Dos 19 pacientes selecionados 10 (52%) eram do sexo masculino, com uma mediana de idade de 60 anos (1 – 81 anos). A mediana da hemoglobina ao diagnóstico foi de 4,9 g/dl (2,2 – 9,6 g/dl). A mediana do tempo de acompanhamento foi de 9 meses (1 – 70 meses). AHAI por anticorpos quentes ocorreu em 9 casos, por anticorpos frios em 5 casos e em 5 casos não foram registrados os anticorpos relacionados. Dos 19 pacientes estudados verificou-se que 5 apresentavam AHAI idiopática, 3 AHAI secundária à infecção, 3 AHAI associada a doença auto-imune e 2 AHAI secundária a transplante alogênico de células tronco hematopoéticas. Com relação ao tratamento inicial, 7 pacientes fizeram uso de pulsoterapia com metilprednisolona, 7 pacientes uso de corticóide via oral, 1 paciente uso de azatioprina e 1 paciente uso de imunoglobulina. Os outros 3 pacientes realizaram apenas tratamento direcionado à doença de base. Dez pacientes (52%) não apresentaram resposta ao tratamento inicial e necessitaram tratamento complementar. Dos 19 pacientes, 14 (73,6%) necessitaram suporte transfusional. Oito 8 pacientes (42%) apresentaram recaída da doença após o tratamento inicial. Com relação ao tratamento subsequente, foi realizada esplenectomia em 3 pacientes, sendo que destes, 2 apresentaram recaída após o procedimento. A maioria dos paciente 10 (52%) permanece em **tratamento:** 6 com prednisona, 1 com ciclosporina, 1 com azatioprina, 1 com rituximabe e 1 com metilprednisolona. Dentre os 9 pacientes que apresentavam AHAI a quente, 5 (56%) recaíram após resposta ao tratamento inicial, 2 estão em tratamento com prednisona, 1 paciente está em tratamento com rituximabe, 1 paciente está em uso de azatioprina e 1 paciente realizou tratamento com prednisona na recaída, respondeu ao tratamento e não se encontra em tratamento no momento. **Conclusão:** A AHAI é uma doença heterogênea com diversas causas associadas. O tratamento inicial é geralmente eficaz, no entanto a maioria dos pacientes apresenta recaídas. No presente estudo 42% dos pacientes recaíram após resposta inicial ao tratamento e 52% dos pacientes continuam em tratamento até o presente momento, o que representa dados semelhantes aos da literatura mundial. Na falta de uma padronização, os pacientes acabam recebendo condutas individualizadas, o que gera dificuldade em saber qual é o tratamento mais adequado. Apesar da baixa prevalência dessa patologia, existe necessidade de novos ensaios clínicos para a realização de um tratamento mais eficaz e com menos toxicidade para os pacientes.

0186

Influência da hidroxiureia na lesão de DNA em pacientes com anemia falciforme

Barberino WM¹, Oliveira RG¹, Teixeira VU¹, Silva DG¹, Belini-Junior E¹, Queiroz AM², Lobo CL², Bonini-Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP
² Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A anemia falciforme (AF) é a mais comum das afecções hematológicas hereditárias conhecidas no homem que acarreta ao portador anemia hemolítica, estresse oxidativo crônico, eventos vasoclusivos e danos a órgãos. O processo de polimerização da hemoglobina (Hb) S resulta na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) que promovem a oxidação de lipídeos e também de proteínas e DNA, modificando mecanismos celulares causando danos a células e tecidos. Uma das principais terapias para a AF é o agente farmacológico hidroxiureia (HU) que a curto prazo, não apresenta toxicidade significativa, porém, a sua eficácia em longo prazo não é certamente conhecida. Corpos de Howell-

-Jolly (CHJ), também conhecidos como micronúcleos (MN), são inclusões de DNA nos eritrócitos como consequência de danos citogenéticos de quebras de fita dupla ou cromossomais ou disfunção do aparato mitótico. Acredita-se que pacientes com AF apresentem uma alta frequência de CHJ seja pela clínica da doença ou pelo tempo de exposição à HU. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência da HU no marcador de lesão de DNA (CHJ) em pacientes com AF. **Métodos:** Amostras de 91 pacientes com anemia falciforme (49 sem uso de HU e 42 fazendo uso da droga por, em média, 933 dias) e 75 indivíduos, sem hemoglobinopatias, pertencentes a um grupo controle, independentes de gênero. As amostras foram submetidas a esfregaços sanguíneos e, posteriormente, corados com corante hematológico (panótico rápido) para análises sob microscopia de luz em aumento de 1000X. Os dados de MN foram avaliados seguindo a razão: n° de micronúcleos/3000 células e submetidos ao teste de Mann-Whitney, utilizando o *software Statistica 8.0*, considerando nível de significância $p < 0,01$. **Resultados:** Observou-se maior número de Corpos de Howell-Jolly (micronúcleos) nas amostras do grupo de pacientes com AF quando comparado ao grupo controle, considerando as médias ($6,22 \pm 5,42$ e $0,15 \pm 0,36$ respectivamente, $p < 0,01$). Restringindo aos portadores de anemia falciforme, os Resultados das frequências de CHJ demonstraram-se maiores nas amostras do grupo com o uso de HU quando comparado ao grupo que não faz uso da droga, considerando as médias ($8,3 \pm 6,8$ e $4,22 \pm 2,9$ respectivamente – $p < 0,0001$). Essa diferença evidencia, de modo geral, a maior lesão de DNA no grupo doente, possivelmente, devido ao intenso processo de estresse oxidativo intrínseco da doença e a resposta a hidroxiureia como possível potencial citotóxico da droga no período de exposição por estes pacientes. **Conclusão:** Tais achados contribuem para um melhor conhecimento da exposição da HU em longo prazo que pode colaborar para estudos futuros em relação à conduta terapêutica frente à medicação específica na anemia falciforme. Outros marcadores de parâmetros bioquímicos e lesão de DNA estão sendo assistidos paralelamente a fim de corroborar com nossa hipótese.

Agradecimentos: Ministério da Saúde, FAPESP.

0187

Anemia hemolítica induzida por infecção por citomegalovírus

Silva DV¹, Silva PR¹, Santana TG¹, Gaspar RS¹, Oliveira RC¹, Oliveira RC¹, Rocha GP¹, Nicolau DI²

¹ Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luís, MA

² Supervisão de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), São Luís, MA

Introdução: A infecção por citomegalovírus (CMV) é de alta soroprevalência, com positividade de até 60-70% nas populações ocidentais. A anemia hemolítica é uma complicação rara em adultos imunocompetente, sendo mais observada em crianças, adultos jovens e imunodeprimidos. A patogênese da hemólise relacionada a esta infecção ainda é incerta, porém, as teorias atuais apontam para ativação autoimune. O diagnóstico se dá pelo teste sorológico para CMV, associado à positividade do Coombs direto ou teste antiglobulina. A primo-infecção pelo CMV, em paciente imunocompetente, é geralmente assintomática ou se expressa através de síndrome mononucleose símile. Em imunocomprometidos podem haver manifestações severas, acarretando danos multissistêmicos. No pós-transplante já é sabida sua indução de rejeição do enxerto. Além destes, a infecção pelo CMV é associada a outras manifestações, como a hemólise e a trombocitopenia. O tratamento para esta complicação ainda é ponto de grandes debates. O arsenal terapêutico se baseia em antivirais, esteróides, imunoglobulinas ou até esplenectomia. A recuperação sem tratamento medicamentoso específico, também é visto nos casos relatados

pela literatura. **Objetivos:** Avaliar a flutuação dos níveis de hemoglobina do pacientes que desenvolvem anemia hemolítica, como complicação de uma infecção por CMV. Bem como, discutir o momento de instauração do tratamento específico e as modalidades terapêuticas disponíveis. **Métodos:** Foi realizada revisão sistemática da literatura, sobre o surgimento da anemia hemolítica como complicação da infecção por CMV em pacientes imunocompetentes. Pesquisados artigos nos bancos do PubMed, Cochrane Library e Lillacs. Sendo analisados artigos de 1984 até 2010. Incluídos na pesquisa, aqueles que relatassem casos de pacientes, imunocompetentes, com infecção aguda por CMV, com comprovação sorológica, apresentando quadro de anemia hemolítica, com teste de Coombs direto positivo ou presença do anticorpo antiglobulina. Foram revisados casos de 13 pacientes e avaliou-se o tratamento utilizado e a flutuação dos níveis de hemoglobina. **Resultados:** O nível de hemoglobina dos pacientes variou de 11,3 g/dl a 3,6 g/dl. Quanto a necessidade de tratamento específico, houve grande discordância. 8 pacientes (61,5%) apresentaram melhora espontânea. Em dois casos (15,4%) utilizou-se imunoglobulina anti-CMV. Um (7,7%) recebeu apenas ganciclovir. Um (7,7%) foi controlado com uso de prednisona e transfusões sanguíneas. Um (7,7%) recebeu ganciclovir associado com prednisolona. **Conclusão:** A raridade do surgimento da anemia hemolítica, como complicação da CMV, faz com que não haja padronização quanto ao manejo dos pacientes. Não há ainda a diretriz quanto a terapêutica a ser instituída, nem do momento a partir do qual a mesma se faz necessária. Corroborando para a teoria do mecanismo autoimune de sua patogênese, está no uso de moduladores imunológicos e corticoterapia para o controle da hemólise. O uso de antivirais se mostrou como medida eficaz na redução do avanço da destruição eritrocítica. A necessidade de se criar um modelo padrão de tratamento para os casos de hemólise na infecção pelo CMV se faz clara. Apesar de ser uma complicação grave, a instauração de terapêutica adequada demonstrou eficácia no controle de sua evolução, realçando a importância da determinação da abordagem mais eficaz de tratamento.

0188

A importância do doppler transcraniano na prevenção de acidentes vasculares encefálicos na doença falciforme

Trindade SM¹, Pinto IS¹, Cardoso MS¹, Vieira C², Pereira LM¹, Paz RB¹, Almeida HJ¹

¹ Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – Hemopa, Belém, PA

² Hospital Universitário Professor Edgar Santos – HUPES, Salvador, BA

O acidente vascular encefálico (AVE) constitui uma das complicações mais devastadoras da Doença Falciforme (DF). Antes da utilização do Doppler transcraniano (DTC) para triagem e prevenção de AVE na DF, a incidência deste era maior em crianças com DF do que em qualquer outra população pediátrica. Através da mensuração da velocidade média do fluxo sanguíneo cerebral nas artérias carótida interna e cerebral média, o DTC prediz quais crianças estão sob maior risco de sofrer um AVE, que é determinado por velocidade de fluxo sanguíneo anormalmente alto nas artérias cerebrais. Valores de velocidade de fluxo sanguíneo, em DF, abaixo de 170 cm/s são considerados normais; valores no intervalo de 170 a 200 cm/s são considerados intermediários ou de risco moderado, e valores acima de 200 cm/s correspondem a alto risco de desenvolvimento de AVE. Episódios de AVE tem enorme impacto na vida de portadores de DF, pois são responsáveis por prejuízo na funcionalidade motora e na cognição, levando a menor qualidade de vida, menor socialização e menores oportunidades de educação e emprego; interferindo muito na vida dos pacientes e de seus familiares. O DTC permite o início

de terapia profilática com hipertransfusões sanguíneas em pacientes apresentando alto risco de AVE, ou o uso de hidroxiuréia em pacientes com risco moderado, desempenhando importante papel na diminuição da incidência de AVE em portadores de doença falciforme. Em razão da dificuldade apresentada por alguns serviços de hematologia para realizar o DTC, foi elaborado um programa de Doppler Itinerante nos estados brasileiros, com a visitação de um profissional neuropediatra especializado em DTC para realizar o exame nos pacientes atendidos nestes serviços com utilização de aparelho portátil. Foram realizados exames de DTC em 49 pacientes portadores de DF (SS e S β) cadastrados no Ambulatório da Fundação HEMOPA no período de março a maio de 2012, com idade entre 2 e 16 anos. Os dados preliminares demonstraram alto risco em 4/49 pacientes e risco condicional em 6/49 pacientes. Todos os pacientes serão acompanhados em longo prazo com novos exames para controle e avaliação da eficácia do tratamento administrado, bem como da incidência de AVE entre os diferentes grupos.

0189

Uso da solução oral de hidroxiuréia em pacientes com doença falciforme

Trindade SM¹, Pinto IS¹, Cardoso MD¹, Almeida HJ¹, Pereira LM¹, Leão M²

¹ Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – Hemopa, Belém, PA

² Escola Superior da Amazônia – ESAMAZ, Belém, PA

Introdução: A Doença Falciforme (DF), uma hemoglobinopatia crônica hereditária, sempre teve tratamento paliativo, baseado principalmente na transfusão de hemácias e tratamento das crises algícas. Nos últimos 25 anos, vários trabalhos foram publicados demonstrando a eficácia da utilização da Hidroxiuréia (HU) para tratamento da patologia, através da elevação da Hemoglobina Fetal (Hb F), com conseqüente prevenção das crises vaso-occlusivas e da hemólise. No entanto, a apresentação disponível da droga (cápsulas de 500 mg) muitas vezes dificulta sua utilização em crianças de baixo peso e pacientes com dificuldade para deglutir cápsulas. O presente trabalho demonstra o resultado da utilização de HU em solução oral, manipulada em uma farmácia especializada, em pacientes com DF atendidos na Fundação HEMOPA. **Métodos:** Foram selecionados 07 (sete) pacientes com diagnóstico de DF, na faixa etária de 04 a 21 anos, que se enquadravam nos critérios de inclusão para tratamento com HU, de acordo com Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas – PCDT do Ministério da Saúde – MS. Do total de 07 pacientes, 06 apresentavam peso abaixo de 25 kg e 02 apresentavam dificuldade para deglutir as cápsulas. A dose inicial da HU, para todos, foi de 15 mg/kg de peso corporal, com aumento progressivo de acordo com a evolução clínica dos pacientes. A manipulação da HU para a forma farmacêutica em xarope foi realizada por uma única farmácia particular, especializada na manipulação de drogas quimioterápicas. As cápsulas de 500 mg foram maceradas para melhor homogeneização e depois solubilizadas em sorbitol ou xarope simples, em temperatura ambiente, envasado em frasco âmbar e flavorizado com sabor escolhido pelo paciente. A concentração da droga foi padronizada em 100 mg/ml, com administração uma vez ao dia, obedecendo a dose estipulada para cada paciente. Os critérios de avaliação de Resultados foram parâmetros laboratoriais (Hb sérica, Hb F, contagem de reticulócitos) e diminuição do número de transfusões, como parâmetro clínico. **Resultados:** Após análise dos parâmetros laboratoriais e clínico, 01 (um) paciente foi excluído do estudo, pois apresentava histórico clínico insuficiente para comparação de dados. O peso e a idade média dos pacientes foi de 21 kg e 8 anos, respectivamente. Em todos os pacientes que fizeram uso da so-

lução oral de HU, foi observado melhora dos parâmetros laboratoriais e clínico. Houve significativa redução do número de transfusões sanguíneas (média anual) em todos os pacientes, assim como aumento da Hb sérica e Hb F. **Conclusão:** A hidroxiuréia em solução oral se mostrou eficaz e segura no tratamento de pacientes portadores de Doença Falciforme que não se adaptam à utilização de comprimidos.

0190

Associação do polimorfismo da ECA com a ocorrência de Síndrome Torácica Aguda em pacientes com anemia falciforme

Teixeira VU¹, Belini-Junior E¹, Okumura JV¹, Lobo CL², Queiroz AM², Bonini-Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP

² Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A anemia falciforme (AF) é caracterizada pela hemoglobina (Hb) S em homozigose, a qual, em estado de desoxigenação, desidratação ou acidose, sofre polimerização, alterando a morfologia dos eritrócitos e culminando em hemólise. A diminuição do fluxo sanguíneo como conseqüência da vaso-occlusão e da diminuição da disponibilidade de óxido nítrico (NO), revela clínica de anemia, crises de dor, hipertensão pulmonar, síndrome torácica aguda (STA), acidente vascular encefálico (AVE) e alterações cardiovasculares. A enzima conversora de angiotensina (ECA) é responsável por converter angiotensina I em angiotensina II, um potente vasoconstritor, que aumenta a reabsorção de sódio e água da urina, aumenta a pressão sanguínea, atua no crescimento e proliferação celular e reduz a biodisponibilidade do óxido nítrico. O polimorfismo rs1799752, inserção (I)/ deleção (D) de 287 pb localiza-se no intron 16 do gene ECA, sendo que a presença do alelo D eleva os níveis dessa enzima, culminando no aumento de angiotensina II. A AF apresenta diversidade clínica e hematológica, dessa forma, torna-se importante saber se há influência dos alelos I e D no fenótipo dos doentes. **Objetivo:** Avaliar a frequência do polimorfismo de ECA, correlacionando-o com a ocorrência de STA nos doentes falciformes. **Métodos:** Foram avaliados 163 pacientes com AF, adultos com média de idade de 33 \pm 13 anos e independente do gênero. O polimorfismo foi avaliado por PCR e os testes estatísticos utilizados foram o *Odds ratio* e o *Qui-quadrado* pelo *software* *Statistica 8.0*. **Resultados:** Dos 163 (100%) pacientes, 31 (19,02%) apresentaram ocorrência de STA e 132 (80,98%) não apresentaram esta manifestação clínica. Dentre os 31 (100%) que apresentaram a STA encontramos sete (22,58%) pacientes com o genótipo II (homozigoto selvagem), 18 (58,06%) com o ID (heterozigoto) e seis (19,35%) com o DD (homozigoto mutante). A frequência alélica para o alelo I foi de 51,61% e para o alelo D de 48,39%. Para os 132 (100%) pacientes sem ocorrência de STA, 20 (15,15%) apresentaram o genótipo II, 55 (41,67%) o ID e 57 (43,18%) o DD. A frequência alélica para o alelo I foi de 35,98% e para o alelo D foi de 64,01%. O grupo de pacientes sem STA apresentou maior frequência do genótipo DD comparado ao grupo com STA ($p=0,014$); e avaliando a ocorrência de STA confrontada ao padrão de alelos estudados, verificamos que os indivíduos que herdaram o alelo I têm 1,89 vezes a mais chance de ocorrência da STA ($p=0,03$). **Conclusão:** A presença do alelo I do gene ECA, apresenta risco de ocorrência de STA em anemia falciforme. **Auxílio financeiro:** CAPES. **Palavras-chave:** polimorfismo, anemia falciforme, enzima conversora de angiotensina (ECA)

Apoio financeiro: Ministério da Saúde/ FUNDARJ (408/10)

0191

Efeitos da associação entre talassemia alfa+ (deleções -alfa3.7 e -alfa4.2) e doença falciforme no perfil laboratorial

Pontes RM¹, Medeiros JF², Lucena SB², Ferreira FS¹, Serrão LW¹, Siqueira PF¹, Coelho HV¹, Rambaldi M³, Costa ES⁴, Fleury MK¹

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

² Hospital Universitário Pedro Ernesto - HUPE, Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, Rio de Janeiro, RJ

³ Sérgio Franco Medicina Diagnóstica, Rio de Janeiro, RJ

⁴ Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira - IPPMG, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A DF é uma anemia hemolítica crônica e hereditária. A polimerização da hemoglobina S causa um desequilíbrio metabólico levando a uma diminuição do período de vida dos eritrócitos, refletindo na concentração de hemoglobina, contagem de reticulócitos, alterações nos níveis de bilirrubinas e desidrogenase láctica (DHL). A presença de alfa talassemia associada reduz a concentração da Hb S no interior dos eritrócitos, diminuindo a frequência dos episódios de falcização e a intensidade da anemia tendo sido considerada fator determinante da gravidade clínica da DF. Esta associação leva a uma menor hemólise, maior sobrevida dos eritrócitos, menor volume corpuscular médio e menor contagem dos reticulócitos. Nosso objetivo foi avaliar o impacto da associação entre Talassemia Alfa e DF na intensidade da hemólise, uma vez que existem controvérsias a esse respeito na literatura. **Métodos:** Foram estudados 41 pacientes (23 sexo feminino e 18 sexo masculino), com idades entre 8 e 59 anos acompanhados no Hospital Universitário Pedro Ernesto - UERJ com diagnóstico de DF, no período de 09/2011 a 03/2012. O DNA das amostras foi isolado dos leucócitos (*kit* BiopurTM - Biometrix). Em seguida, os genes alfa foram amplificados pela técnica PCR - Multiplex e analisados em gel de agarose a 1%. A determinação e quantificação das hemoglobinas foram realizadas pelo método Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) – no equipamento VARIANT I da BIO RAD®. Dosagem da bilirrubina indireta (BI), desidrogenase láctica (LDH), Transaminase Oxalacética (TGO), contagem de reticulócitos (RET) e Hemoglobina (Hb) foram utilizados como indicadores de hemólise. **Resultados:** Dos 41 pacientes com DF estudados: 32 apresentaram fenótipo SS; 07 SC (hemoglobinopatia SC) e 02 S/β0 (S beta zero talassemia). A presença de Alfa Talassemia associada foi encontrada em 08 pacientes (19,5%), 07 pacientes heterozigotos para a deleção 3,7 kb e 01 homozigoto para a deleção 3,7kb. Os indicadores de hemólise (BI, LDH, TGO e RET) apresentam-se inferiores e os níveis de Hb encontram-se elevados revelando menos hemólise no grupo de pacientes com DF e alfa talassemia associada. **Conclusão:** Nossos Resultados sugerem que os pacientes com DF e a Talassemia Alfa concomitantes cursam com hemólise menos intensa do que os que apresentam exclusivamente DF. Estamos aumentando a casuística do estudo para verificar com maior nível de segurança a significância destes achados.

0192

Rastreamento computacional de fatores de transcrição associados com polimorfismos de base única (SNP) no QTL HBS1L-MYB (região intergênica) relacionado à variação de hemoglobina fetal

Venancio LP, Carrocini GC, Domingos CR

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP

A Doença Falciforme e a beta talassemia estão entre as afecções genéticas mais comuns e com maior impacto em mortalidade e

saúde global. Um dos fatores mais importantes associados à melhora no quadro clínico é a produção de hemoglobina fetal (HbF), que é regulada por vários fatores genéticos. Estudos de GWAS destacam alguns fatores genéticos (QTLs) associados aos níveis de expressão desta hemoglobina, como polimorfismos no gene BLC11A e na região intergênica HBS1L-MYB, conhecida como HMIP; no entanto, estas relações ainda não foram totalmente esclarecidas. O objetivo deste estudo foi avaliar a região HMIP, em especial, as porções flangeadoras ao SNP rs9399137, visto que este é o mais significativamente associado com HbF, por meio de análise comparativa de sequências (*footprinting* filogenético). Este método baseia-se na identificação de regiões altamente conservadas em regiões não codificantes de diferentes espécies, indicando a possível existência de regiões funcionais, como fatores de transcrição (*FT*). Para análise comparativa, foram utilizadas sequências genômicas da região HMIP de *Homo sapiens* (NC_000006.11), *Pan troglodytes* (NC_006473.3), *Pongo abelli* (NC_012597.1) e *Canis familiaris* (NC_006583.3), depositadas no GenBank. O esquema computacional para alinhamento e análise de conservação baseou-se no programa de alinhamento local BLAT para identificação de homologia, que foram então processadas e globalmente alinhadas utilizando o programa mLAGAN (alinhamento múltiplo). Os alinhamentos foram visualizados por meio do VISTA Browser, que define por cores e padrões de “picos e vales” a conservação da região avaliada. Para avaliação da conservação, foram utilizados os parâmetros *default* do programa (70% de identidade em pelo menos 100bp). Para identificação de *FT* foi utilizado o rVISTA que associa o banco de dados TRANSFAC (913 *motifs*) com análise comparativa de sequências. Os Resultados indicaram a ocorrência de 206 *motifs* de *FT* conservados associados à região do SNP. Os *FT* relacionam-se, em sua maioria, com o desenvolvimento de tecidos neurais, musculares, ósseo, diferenciação sexual, e também com a regulação e proliferação do ciclo celular, metilação e deacetilação de histonas. Observou-se a ocorrência de *motifs* associados com a viabilidade do embrião em relação à eritropoiese normal (OCT1), diferenciação e maturidade funcional de células progenitoras granulocíticas (C/EBP), expansão de células-tronco hematopoéticas e células progenitoras (HOXA10, HOXB4, MEIS1), aceleração da diferenciação de progenitores eritróides (FOXO3), diferenciação eritróide (BCL6) e controle da hematopoiese no fígado no período fetal (LH2); observou-se o *motif* CP2, responsável pela transcrição ativa do gene da α-globina e genes eritróides. Destaca-se aqui a ocorrência de sequências de reconhecimento de *FT* do grupo SOX, do qual pertence o SOX6, que está relacionado com a proliferação e maturação das células eritróides durante a eritropoiese, e principalmente, coopera com BCL11A no silenciamento da expressão do gene γ-globina, afetando os níveis de Hb F. Portanto, esta região pode estar associada com o controle de fatores responsáveis pela formação e caracterização fenotípica das células-tronco hematopoéticas no embrião e no feto, refletindo na fase adulta.

0193

Avaliação e prospecção *in silico* de fatores de transcrição na região do polimorfismo t-786c associados à regulação do gene nos3 (óxido nítrico sintase 3 – endotelial)

Venancio LP, Junior EB, Domingos CR

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP

O óxido nítrico (NO) produzido no endotélio vascular pela enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOS3), em condições fisiológicas normais, atua como vasodilatador e possui papel central na homeostase, limitando a injúria isquemia-reperfusão e modulando a proliferação endotelial. A doença falciforme (DF) é caracterizada por inflamação crônica como consequência da oclusão contínua

da microvasculatura. Baseando-se na condição da fisiopatologia da DF, o NO pode apresentar papel compensatório na manutenção da homeostase endotelial nesta afecção genética. O polimorfismo T-786C do gene NOS3 reduz a atividade do gene, podendo estar associado com o aumento da susceptibilidade a algumas complicações da DF, como síndrome torácica aguda e hipertensão pulmonar. O objetivo deste estudo foi avaliar a região promotora do gene NOS3, em especial, as porções flanqueadoras ao polimorfismo T-786C (rs2070744), por meio de análise comparativa de sequências. Este método baseia-se na identificação de regiões altamente conservadas em regiões não codificantes de diferentes espécies, indicando a possível existência de regiões funcionais, como fatores de transcrição (FT). Para análise comparativa, foram utilizadas sequências genômicas da região HMIP de *Homo sapiens* (NC_000007.13), *Bos taurus* (AC_000161.1) e *Canis familiaris* (NC_006598.3), depositadas no GenBank. O esquema computacional para alinhamento e análise de conservação baseou-se no programa de alinhamento local BLAT para identificação de homologia, que foram então processadas e globalmente alinhadas utilizando o programa mLAGAN (alinhamento múltiplo). Os alinhamentos foram visualizados por meio do VISTA Browser, que define por cores e padrões de "picos e vales" a conservação da região avaliada. Para avaliação da conservação, foram utilizados os parâmetros *default* do programa (70% de identidade em pelo menos 100bp). Para identificação de FT foi utilizado o rVISTA que associa ao banco de dados TRANSFAC (913 *motifs*) com análise comparativa de sequências. Os Resultados indicaram a ocorrência de 21 *motifs* de FT conservados associados à região do polimorfismo. Os principais elementos regulatórios encontrados relacionam-se com ativação e repressão transcricional (SP1, AP4, VDR, vMAF); outros estão associados com resposta inflamatória, como por exemplo, SMAD (sinalização de citocinas como TGFβ), P50P50 (associado ao NFκβ); ciclo celular e apoptose (P53, AP2, AP2β); além de *motifs* associados a geração e regulação de células hematopoiéticas e progenitoras (HOXA3) e com a expressão do gene da α-globina e genes eritróides (CP2). Destaca-se que o polimorfismo modifica a região do motif ou provoca a perda total do sítio de reconhecimento de AP2, RNF96 e YY1, que estão diretamente relacionados com o controle transcricional, e principalmente, provoca a alteração do sítio de reconhecimento de ERα (receptor de estrógeno). Este é um fator muito importante, visto que a expressão da isoforma endotelial do gene é regulada pelo estrógeno. Deste modo, pode-se inferir que a modificação de sítio de reconhecimento de fatores de transcrição, em especial o ERα, é responsável por alterar a expressão do gene estudado, diminuindo a síntese do óxido nítrico e influenciando nas complicações clínicas associadas à doença falciforme.

0194

Frequência genotípica e alélica dos haplótipos da globina beta-s em cidades brasileiras

Manoel BF¹, Castelo NM², Okumura JV¹, Belini-Junior E¹, Lobo CL³, Bonini-Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP
² Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, Macapá, AP
³ Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A anemia falciforme (AF) é a doença hematológica hereditária mais frequente no mundo, caracterizada pela presença da hemoglobina S em homocigose (HbSS). A heterogeneidade clínica é justificada em parte pelos haplótipos da globina β^s, nomeados de acordo com regiões de origem do alelo β^s em: Bantu, Benin, Senegal, Saudi e Camarões. No Brasil, devido à alta

miscigenação, além destes, são encontrados haplótipos que não se enquadram em nenhum dos padrões clássicos e, portanto, denominados atípicos. **Objetivo:** Estabelecer análise comparativa das frequências, alélica e genotípica, dos haplótipos da globina β^s entre pacientes do Rio de Janeiro-RJ (RJ), São Paulo-SP (SP), São José do Rio Preto-SP (SJRJ) e Macapá-AP. **Métodos:** As amostras de sangue (n= 617) foram submetidas à triagem inicial e posterior extração de DNA para a confirmação por PCR-RFLP da homocigose para a Hb S e haplótipos, classificados por análise de seis sítios polimórficos. **Resultados:** Dos 18 (100%) pacientes com AF de SJRP, 12 (66.7%) eram Bantu/Bantu, quatro (22.2%) Bantu/Benin e dois (11.1%) Benin/Atípico. Dos 36 (100%) pacientes de SP, 19 (52.8%) eram Bantu/Bantu, oito (22.2%) Bantu/Benin, quatro (11.1%) Benin/Benin, quatro (11.1%) Bantu/Atípico e um (2.8%) Benin/Atípico. Do total de 527 (100%) pacientes do RJ, 294 (55.8%) eram Bantu/Bantu, 128 (24.3%) Bantu/Benin, dois (0.4%) Bantu/Senegal, três (0.6%) Bantu/Camarões, dois (0.4%) Bantu/Saudi, 36 (6.8%) Benin/Benin, três (0.6%) Benin/Camarões, um (0.2%) Benin/Saudi, 44 (8.3%) Bantu/Atípico, 10 (1.9%) Benin/Atípico, quatro (0.8%) Atípico/Atípico. Em Macapá foram coletadas amostras de 36 (100%) pacientes, sendo 15 (41.7%) Bantu/Bantu, nove (25%) Bantu/Benin, seis (16.7%) Bantu/Senegal, dois (5.5%) Benin/Benin, três (8.3%) Benin/Senegal e um (2.8%) Senegal/Senegal. Dos 1234 (100%) alelos analisados, os haplótipos, Bantu e Benin estiveram presentes nas quatro localidades sendo o Bantu mais frequente com 28 (2,27%) em SJRP, 50 (4,06%) em SP, 767 (62,16%) no RJ e 45 (3,65%) em Macapá. O Benin com seis (0,48%) em SJRP, 17 (1,37%) em SP, 214 (17,35%) no RJ e 16 (1,3%) em Macapá. O haplótipo Senegal esteve presente no RJ com dois alelos (0,16%) e 11 (0,9%) em Macapá. O Camarões e o Saudi só foram identificados no RJ em seis (0,48%) e 3 (0,24%) respectivamente. Quanto aos atípicos, a maior frequência ocorreu no RJ com 62 (5,02%) seguido de SP com cinco (0,40%) e SJRP com dois (0,16%). Em Macapá, não foram identificados atípicos. **Conclusão:** Os Resultados encontrados evidenciam a miscigenação do nosso país, tanto pelas diferentes combinações dos haplótipos clássicos, quanto pela ocorrência de atípicos. Em Macapá, os genótipos encontrados resultaram da combinação de somente três alelos (Bantu, Benin e Senegal) e nenhum atípico, mostrando possível nucleação de grupos fundadores sem grande miscigenação. **Palavras-chave:** anemia falciforme, haplótipos, miscigenação **Auxílio financeiro:** FAPESP (2011/14168-5), FUNDARJ (n°408/10) e Ministério da Saúde.

0195

Achados fundoscópicos em pacientes com doença falciforme

Moraes CO, Neto OA, Polis LB, Brunetta DM, Macedo MD, Silva-Pinto AC, Angulo IL, Santis GC, Covas DT, Bassi SC, Ribeiro FB

Centro Regional de Hemoterapia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Introdução: Doença falciforme (DF) compreende um grupo de enfermidades caracterizadas pela presença da hemoglobina S. Em situações de estresse, como nas infecções, ocorre desoxigenação das moléculas de HbS e falcização de um grande número de hemácias, causando hemólise e vaso-oclusão. A anemia hemolítica crônica e as frequentes crises vaso-oclusivas causam danos em vários órgãos e comprometem tanto a sobrevida, quanto a qualidade de vida dos pacientes portadores de DF. Um dos órgãos acometidos pela doença falciforme é o olho, que pode sofrer lesão em vários segmentos, incluindo a conjuntiva, íris, a úvea e a retina. Além disso, o processo patológico da doença falciforme pode acometer todo o leito vascular ocular podendo levar à perda da visão. Entretanto, estágios iniciais da

doença são geralmente assintomáticos e a detecção da complicação oftalmológica pode ser tardia, com consequências graves para o paciente. **Métodos:** Foi feita avaliação oftalmológica de 222 portadores de DF, durante o período de novembro de 2009 a junho de 2012. **Resultados:** Foram estudados 114 pacientes do sexo masculino (51,3%) e 108 do feminino (48,6%), num total de 444 olhos. A faixa etária variou de 7 a 64 anos, com média de 26,5 anos. Quanto aos tipos de DF, o mais frequente foi o tipo SS com 136 (61,2%) pacientes, seguido pelos tipos SC (21,1%) e pelo tipo S-Beta com 37 (16,6%) pacientes. Foram encontrados 53 (23,8%) pacientes com alterações oftalmológicas com padrões distintos de lesões retinianas: 16 pacientes com tortuosidade venosa; 13 com neovascularização; 11 com oclusões periféricas, isquêmicas e branco sem pressão; 5 com lesões tipo "black sunburst"; e 4 pacientes com hemorragias (vítrea e retiniana). Foi diagnosticado 1 caso de palidez isolada do nervo óptico e 1 caso com lesões hiperpigmentadas em retina inferior, ambos pertencentes ao tipo SS. As lesões tipo tortuosidade venosa e hemorragia "black sunburst" foram mais frequentes no tipo SS. A prevalência de retinopatia foi igual entre os pacientes com Hb SS e SC (27%). Tentamos relacionar retinopatia com a presença de proteinúria, contudo não foi encontrada relação estatisticamente significativa. **Conclusões:** Como até o momento não é possível identificar aqueles pacientes com risco aumentado de retinopatia falciforme, há necessidade de um exame oftalmológico precoce e acompanhamento periódico de todos os portadores de DF, principalmente após os 10 anos de idade, como medida de se evitar complicações oftalmológicas futuras. Além disso, talvez estudos mais aprofundados da fisiopatologia da retinopatia falciforme possam permitir a identificação de fatores de risco para a retinopatia falciforme e possam propiciar uma triagem de pacientes particularmente mais susceptíveis ao desenvolvimento dessa complicação, favorecendo a instituição precoce do tratamento específico.

0196

Elevação de marcadores de hipercoagulabilidade na hemoglobinopatia SC

Colella MP, Paula EV, Conran N, Neto JA, Quaino SK, Bizzachi JM, Costa FF, Saad ST, Traina F

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

A hemoglobinopatia SC (HbSC) é a segunda hemoglobinopatia mais prevalente após a Anemia Falciforme (AF) (homozigotos HbSS). Estudos têm demonstrado um risco aumentado de eventos tromboembólicos na HbSC, sendo a embolia pulmonar a segunda maior causa de mortalidade nestes pacientes. No entanto, pouco se sabe sobre a ativação da coagulação nesta patologia. Este estudo teve como objetivo avaliar os marcadores de hipercoagulabilidade na HbSC e suas associações com características clínicas e laboratoriais. Foram incluídos no estudo apenas pacientes estáveis, sem história de internação hospitalar, crise vaso-oclusiva ou transfusão nos três meses precedentes, sendo 41 pacientes com HbSC (idade média de 43 anos), 58 com HbSS (idade média de 36 anos), e 25 controles saudáveis da mesma faixa etária (idade média de 38 anos). Estudamos a expressão de fator tecidual (FT), o iniciador fisiológico da coagulação, e do complexo trombina-antitrombina III (TAT), um marcador final da geração de trombina. A expressão de mRNA do FT em leucócitos totais foi avaliada através de RT-PCR quantitativo em tempo real e os níveis plasmáticos de TAT foram medidos por ELISA. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o teste de Kruskal-Wallis, teste de Fisher, teste U de Mann-Whitney e teste correlação de Spearman. Os pacientes com HbSC apresentaram maiores níveis de expressão gênica relativa de FT em compara-

ção aos controles (2,6 vs 1,2), porém menores níveis de FT em comparação aos pacientes com HbSS (2,6 vs 3,3) ($P < 0,0001$). Confirmando a relevância biológica da expressão do FT, os níveis plasmáticos de TAT também foram maiores em pacientes HbSC quando comparados aos controles (4,2 vs 2,4), e menor nos pacientes HbSC do que os HbSS (4,2 vs 7,3); ($P < 0,0001$). Nas análises da coorte HbSC, encontramos correlações positivas entre níveis de TAT e marcadores de inflamação: contagem de leucócitos, monócitos e plaquetas; e marcadores de hemólise: contagem de reticulócitos e níveis de lactato desidrogenase ($P < 0,01$). Pacientes com retinopatia tinham níveis significativamente mais elevados de TAT quando comparados aos pacientes sem esta complicação (4,7 vs 3,9; $P = 0,03$). Os níveis de TAT também foram maiores em pacientes com autoesplenectomia (4,8 vs 3,8; $P = 0,004$), e em pacientes com osteonecrose, embora este tivesse significância estatística limítrofe (4,6 vs 3,9; $P = 0,06$). A expressão relativa de FT apresentou correlação significativa com contagens de monócitos ($P = 0,01$). Nossos Resultados indicam que pacientes portadores de hemoglobinopatia SC apresentam elevação de marcadores de ativação da coagulação quando comparados aos controles, embora não tão intensa como visto na AF. Nossos dados sugerem que a inflamação e a hemólise são fatores importantes que contribuem para a ativação hemostática, a qual possivelmente está envolvida na fisiopatologia de complicações crônicas muito prevalentes na HbSC: retinopatia e osteonecrose. Além disso, em nossa casuística, os pacientes com autoesplenectomia apresentaram maiores níveis de marcadores pró-coagulantes, possivelmente devido a uma maior taxa de hemólise intravascular e contagens elevadas de leucócitos e plaquetas. Tendo em vista a alta prevalência e a morbimortalidade das complicações trombóticas nesta população, acreditamos que futuros estudos deveriam se concentrar em uma melhor compreensão de hipercoagulabilidade na hemoglobinopatia SC.

0197

Relação entre marcadores de hemólise, de lesão hepatobiliar e uso de hidroxiureia na anemia falciforme

Silva DG^{1,2}, Belini-Junior E¹, Okumura JV¹, Torres LS¹, Manoel BF¹, Moschetta VA¹, Zamaro PJ¹, Queiroz AM³, Lobo CL³, Bonini-Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP

² Departamento de Química e Ciências Ambientais, Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Ambiental, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP

³ Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

A anemia falciforme (AF) apresenta fisiopatologia complexa que dificulta o tratamento e culmina no desenvolvimento de diversas manifestações clínicas. Até o presente momento, a hidroxiureia (HU) é o único medicamento que, efetivamente, teve impacto na melhora da qualidade de vida dos pacientes com AF. Porém, a HU pode promover lesões hepatobiliares como efeitos adversos, uma vez que a mesma é primordialmente metabolizada no fígado e excretada por via renal. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar marcadores bioquímicos de alterações hepatobiliares e de hemólise, correlacionando-os com o uso de HU. Foram analisados 56 pacientes após consentimento informado, adultos e de ambos os gêneros (27 sob uso de HU há pelo menos um ano e 29 não tratados com HU), em acompanhamento Instituto Estadual de Hematologia do Rio de Janeiro (HEMORIO). Os parâmetros bioquímicos foram avaliados por meio de Métodos colorimétricos e os dados obtidos por meio de consulta a prontuários: lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST), alan-

na aminotransferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA), todas as enzimas expressas em U/L. A normalidade e homogeneidade das variáveis foram testadas e a influência do gênero verificada. As médias ou medianas entre os grupos (pacientes sob uso de HU e não tratados com HU) foram comparadas, assim como o grau de associação entre as variáveis estudadas. O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$. O tratamento com HU culminou na redução da expressão dos marcadores LDH (Teste t ; $p < 0,01$) e AST (Mann-Whitney; $p = 0,03$) e no aumento da GGT (Mann-Whitney; $p < 0,01$), comparado com o grupo de pacientes não tratados. Os demais parâmetros avaliados não apresentaram expressão estatisticamente diferencial e o gênero não exerceu qualquer influência sobre os marcadores estudados. Os níveis de LDH se correlacionaram positivamente com AST ($r = 0,46$; $p < 0,01$) e negativamente com GGT ($r = -0,34$; $p = 0,01$). A enzima ALT estabeleceu correspondência positiva com os níveis de GGT ($r = 0,37$; $p < 0,01$) e FA ($r = 0,34$; $p = 0,04$) que não apresentaram associação entre si, indicando ausência de lesão das vias biliares. Pois lesões biliares estão, comumente, associadas ao aumento concomitante das enzimas GGT e FA. Os Resultados indicam a baixa especificidade da enzima AST como marcador de toxicidade hepática; e sugerem papel fundamental da enzima GGT na detoxificação da HU. O uso de HU melhorou o quadro hemolítico dos pacientes e não apresentou efeitos secundários de toxicidade hepatobiliar. **Palavras-chave:** hemoglobina S, hidroxiureia, toxicidade hepatobiliar **Auxílio financeiro:** CNPq (140911/2011-1); Ministério da Saúde (3072/2007) e FUNDARJ

0198

Frequência de hemoglobinopatias estruturais em pacientes com malária vivax da cidade de Manaus, AM

Mathias JL¹, Almeida AC^{1,2}, Lacerda MV², Goncalves MS³, Cerqueira BA³, Lima ES¹, Neto JP¹

¹ Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus, AM

² Fundação de Medicina Tropical do Amazonas – FMTAM, Manaus, AM

³ Universidade Federal da Bahia – UFBA, Salvador, BA

As hemoglobinopatias, distúrbios genéticos na molécula de hemoglobina, incluindo as talassemias e anemia falciforme, possui frequência elevada em regiões onde a malária é endêmica, evidenciando papel de proteção contra malária grave. Apesar da correlação espacial global entre malária e hemoglobinopatias, diferenças interpopulacionais têm sido observadas em todo o mundo. Através de estudo descritivo e retrospectivo, investigamos a frequência de hemoglobinopatias estruturais, no período entre agosto e dezembro de 2011 em 226 pacientes diagnosticados com malária por *Plasmodium vivax* pela Fundação de Medicina Tropical do Amazonas-Manaus-AM (FMT-AM). O projeto foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, e os pacientes participantes da pesquisa assinaram o TCLE. O perfil de hemoglobinas foi determinado por cromatografia líquida de alto desempenho utilizando equipamento VARIANT I (BIO-RAD). Nossos Resultados demonstraram a presença de indivíduos portadores de heterozigose para hemoglobina, sendo oito (08) AS e três (03) AC, totalizando 4,87% de portadores. A carga parasitária foi menor nos portadores AS e AC quando comparadas ao genótipo selvagem AA. Muitos estudos correlacionando hemoglobinopatias e malária têm demonstrado diferentes graus significativos de proteção contra formas clínicas graves, porém, a grande maioria relacionada à malária falciparum, onde maior carga parasitária gera maior gravidade e aumento no número de mortes. Todavia, hemoglobinopatias podem diferir substancialmente no grau de proteção, conferindo proteção leve ou não contra a malária não complicada e parasitemia assintomática, sendo ainda não totalmente compreendida, principalmente quando correlacionada a malária vivax. Trabalhos demonstram que caracterís-

ticas individuais levam a resistência natural à malária. Além das hemoglobinopatias estruturais isoladamente, também interações com a talassemia alfa e/ou enzimopatias, como a deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase, podem modificar os mecanismos protetores que influenciam na gravidade da doença. Além disso, estudo de outros polimorfismos, como aqueles envolvidos a imunidade inata, pode desenvolver uma visão clara de até que ponto hemoglobinopatias específicas confere proteção contra as diferentes formas clínicas da malária, além dos mecanismos que interagem nesta proteção. A malária ainda continua colocando um fardo insuportável em muitas populações vulneráveis ao redor do mundo. Acreditamos que com o aumento do número de participantes, bem como estudos de outros polimorfismos, poderemos aprofundar o conhecimento de como os seres humanos se adaptaram a esta terrível doença, enfatizando algumas hipóteses importantes em nosso conhecimento e a necessidade de mais estudos e quem sabe, fornecer caminhos que levem a uma solução duradoura e até permanente da Malária.

0199

Colecistectomia videolaparoscópica x laparotomia exploradora em pacientes falcêmicos

Costa MA^{1,2}, Pedreira FA^{1,2,3,4}, Rodrigues DO^{3,5}, Pereira FA^{1,3,4,6}, Dias TL^{1,4,5}, Kroger FL^{1,2}, Teixeira MT⁵, Oliveira CM^{2,5}

¹ Liga Acadêmica de Hematologia Hemoliga

² Universidade Antonio Carlos FAME JF UNIPAC

³ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG

⁴ BIC FAPEMIG

⁵ Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

⁶ Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Suprema, Juiz de Fora

Introdução: A anemia falciforme é uma anemia hemolítica hereditária, caracterizada pela presença de hemácias com formato anormal que são removidas da circulação e destruídas. Clinicamente observa-se hemólise crônica, suscetibilidade a infecções, crises agudas de dor devido à micro infartos e disfunção de diversos órgãos. A incidência de colelitíase em pacientes falcêmicos varia em torno de 30%, é a complicação digestiva mais comum nesse paciente e sua incidência aumenta com a faixa etária. Essa incidência se justifica devido à ocorrência de hemólise crônica, hiperbilirrubinemia e formação de cálculos. Os sintomas mais típicos são plenitude gástrica, dor abdominal em hipocôndrio direito, náuseas e vômitos, febre, icterícia, colúria e acolia fecal. A conduta terapêutica consensual é a colecistectomia, principalmente por via laparoscópica. **Objetivo:** Comparar a morbimortalidade entre as vias para a realização da colecistectomia, videolaparoscópica e laparotomia exploradora. **Métodos:** Realizou-se uma revisão bibliográfica, em bases de dados científicos da área médica como: Medline, Pubmed, LILACS, BI REME, SciELO no período de 1992 a 2010. **Resultados:** As vias cirúrgicas utilizadas para a realização da colecistectomia são a laparotomia e a laparoscopia, sendo que esta é considerada como a via de maior segurança para o paciente falciforme apresentando menos complicações relacionadas à cirurgia, menor tempo cirúrgico e recuperação pós-operatória mais rápida. **Conclusão:** A técnica laparoscópica fez com que houvesse diminuição da morbi-mortalidade em razão de ser uma cirurgia minimamente invasiva, as indicações de colecistectomia eletiva nos pacientes assintomáticos aumentaram, e as complicações como atelectasia, pneumonite, infarto pulmonar e infecções vem diminuindo gradativamente. **Palavras-chave:** Colecistectomia, Anemia, Falciforme, Videolaparoscopia, Laparotomia.

0200

Espondilodiscite séptica em um paciente com anemia falciforme: Relato de caso

Souza KJ, Bressa RC, Bressa JA

Universidade do Oeste Paulista - Unoeste, Presidente Prudente – SP

Introdução: A anemia falciforme é uma doença de caráter genético originada por uma mutação no cromossomo 11, que resulta na substituição de um ácido glutâmico pela valina na posição 6 da extremidade N-terminal na cadeia β da globina, dando origem à hemoglobina S. As falcizações recorrentes provocam lesões isquêmicas teciduais importantes com graves manifestações clínicas como baixo crescimento, episódios de crises dolorosas vaso-oclusivas, e aumento da suscetibilidade à infecções sendo o sistema osteomuscular o mais acometido. As infecções exacerbam as crises e aumentam a morbidade e a mortalidade entre os pacientes, sendo que os principais agentes etiológicos associados a episódios de infecção bacteriana invasiva nestes indivíduos, em ordem decrescente de frequência, são: *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella spp.*, *Haemophilus influenzae* tipo B, *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.* Este relato tem por objetivo descrever um caso de espondilodiscite séptica por *Enterobacter spp.* em um paciente com Anemia falciforme. **Métodos:** Levantamento de prontuário, descrição e Discussão de relato de caso com revisão bibliográfica em banco de dados (PubMed). **Resultados:** É relatado o caso de um paciente, sexo masculino, 28 anos, que dá entrada no pronto-socorro com queixa de dor na coluna há 4 dias, de forte intensidade, constante, do tipo aperto, irradiada para flancos, sem fatores de melhora, acompanhada de febre, nega trauma e nega esforço não habitual. Ao exame hematológico apresenta: eritrócitos 2,35M/ μ l hemoglobina 6,9g/dl, plaquetas 429K/ μ l, leucócitos 21,53K/ μ l com neutrofilia, linfocitose e monocitose absoluta, desidrogenase láctica de 686U/L e hemossedimentação acima de 140mm/h. Foi realizada urina I, que veio sem alterações, hemocultura que demonstrou a presença de *Enterobacter spp.*. Na Ressonância magnética nuclear de coluna lombo-sacra mostrou alteração de sinal acometendo os discos intervertebrais de L1-L2 e L2-L3 associado a massa envolvendo os corpos vertebrais nesta topografia, compatível com o quadro de espondilodiscite. Foi tratado inicialmente com cefuroxima 2g/dia quando no d20 evoluiu com Síndrome torácica aguda. Foi transferido para a Unidade de terapia intensiva e foi tratado com Vancomicina 2g/dia/10dias e Meropenem 3g/dia/10dias, obtendo resolução do quadro e alta hospitalar. **Conclusão:** As infecções espinhais são importantes e prevalentes causas de morbidade em pacientes com anemia falciforme. Os agentes etiológicos frequentemente isolados nos casos de infecções esqueléticas na maioria das séries é a salmonela (57%), ocorrendo também casos por *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, β -*streptococcus*/Klebsiella e *Escherichia coli*/Enterococcus. A espondilodiscite é um processo infeccioso envolvendo dois corpos vertebrais e um disco entre eles, onde o *Staphylococcus aureus* é o micro-organismo mais prevalente. Neste caso foi identificada a bactéria *Enterobacter sp.* através da hemocultura. Concluímos que o rápido diagnóstico e tratamento de infecções em pacientes com anemia falciforme é essencial para diminuir os danos osteo-articulares e assim melhorar a qualidade de vida.

0201

Screening neonatal para hemoglobinopatias: revisão históricaPedreira FA^{1,2,3}, Rodrigues DO^{4,5}, Oliveira CM^{1,5}, Kroger FL^{1,3}, Costa MA^{1,3}, Pereira FA^{2,3,4}, Dias TL^{2,3,5}, Teixeira MT⁵, Ribeiro LC⁵¹ Universidade Antonio Carlos FAME JF UNIPAC² BIC FAPEMIG³ Liga Acadêmica de Hematologia HEMOLIGA⁴ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG⁵ Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

Introdução: A Doença Falciforme (DF) designa um grupo de desordens hematológicas genéticas. Estas hemoglobinopatias são as enfermidades de maior frequência no mundo e possuem alta morbi-mortalidade. A identificação neonatal dos portadores desta alteração reduz as complicações. **Métodos:** Foi realizada uma pesquisa documental nas páginas do NUPAD/UFMG e do Ministério da Saúde/DATASUS. **Resultados:** Entre 1990 e 1996 foram criados a Comissão de Programas de Rastreamento Neonatal, o Comitê de Hemoglobinopatias e o Programa de Anemia Falciforme. Em 2001 por meio da Secretaria de Atenção à Saúde foi estabelecida a Portaria Ministerial GM nº 822/01, que incluiu o exame que detecta doença falciforme e outras hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). Minas Gerais é pioneiro na detecção de doenças congênitas e encontra-se na Fase III do PNTN. Atualmente 98% dos recém-nascidos em Minas realizam a triagem neonatal. O programa é implantado em fases e incluem triagem, confirmação diagnóstica, acompanhamento e tratamento: Fase I fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito; Fase II: Fase I + doenças falciformes e outras hemoglobinopatias e Fase III: Fase II + fibrose cística. **Conclusão:** Os programas de rastreio, ações desenvolvidas pela atenção primária à saúde, são um grande passo para o aumento da sobrevivência, reduzindo a hospitalização e minimizando as despesas associadas com a doença falciforme. **Apoio Financeiro:** FAPEMIG

0202

Análise das causas de admissão e da evolução de pacientes com hemoglobinopatias na UTI do hospital HEMOPECosta LC^{1,2}, Araujo E^{1,2}, Silva OB², Teles D^{1,2}, Santos LA^{1,2}, Salvattori T^{1,2}, Júnior NF^{1,2}, Loureiro P^{1,2}, Cavalcanti MD¹, Trindade G²¹ Universidade de Pernambuco - UPE, Recife, PE² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Caruaru, PE

Introdução: A Doença Falciforme (DF) é uma doença hereditária de caráter genético e cuja característica é a hemoglobina anormal SS. O curso clínico dos pacientes de anemia falciforme é bastante variável, muitos tendo vida quase normal, enquanto que outros têm crises vaso-oclusivas aplásticas, viscerais ou hemolíticas, desde a infância. As crises vaso-oclusivas dolorosas são as mais frequentes entre os pacientes e precipitadas por fatores tais como: infecção, desidratação, acidose dentre outros fatores. Durante as crises podem ocorrer infartos em vários órgãos incluindo os ossos, pulmões e baço. A síndrome falcêmica torácica aguda é uma das complicações importantes e pode levar a óbito. Diante de quadros tão graves o paciente com Doença Falciforme pode vir a necessitar de assistência de UTI. O objetivo deste estudo é descrever a experiência no Hospital Hemope do acompanhamento dos pacientes com DF e a assistência de UTI no período de 2006 a 2009. **Métodos:** Estudo observacional retrospectivo e descritivo no período de 2006 a 2009.

Foi realizada a coleta dos dados em prontuários dos pacientes. Foram analisados 506 prontuários correspondente às admissões na UTI especializada. Dentre todas as admissões 20 pacientes tinham Doença Falciforme. O estudo se propõe a descrever as indicações de admissão, o diagnóstico da UTI, a evolução em relação a suporte e desfecho. **Resultados:** Foram analisados 506 admissões na UTI_Hemope, destas 20(4%) eram pacientes com DF. O perfil dos pacientes eram 11 do sexo feminino, com idade entre 19 e 68 anos, e 9 do sexo masculino, com idade entre 11 e 40 anos. A idade média dos pacientes era 28 anos. Em relação à admissão por ano, em 2006 foram 6 admissões, 2007 foram 8, 2008 admitidos 2, e 2009 totalizaram 3 pacientes. Os diagnósticos de admissão da UTI foram: crise algica e convulsão(1), crise algica e ITR(1), reação hemolítica pós-transfusional (1), IRA(1), IRPA e séptico(5), IRPA e não séptico(3), sepsis (3) e sem diagnóstico no prontuário (3). A mediana de permanência na UTI foi de 3,5 dias sendo o menor intervalo em horas e o maior, 39 dias. O nível de hemoglobina na admissão foi: <5,0g/dL(2), 5-6g/dL(1), 5-6,9 g/dL(4), 7-10 g/dL(8). Em relação à transfusão sanguínea 10 pacientes realizaram entre 1 a 5 bolsas de concentrado de hemácias e três fizeram concentrado de plaquetas e dois usaram o plasma fresco congelado, e somente um paciente apresentou reação transfusional. Quanto às infecções 11 pacientes tiveram infecção do trato respiratório, 2 do trato urinário, sendo 9 comunitária e 6 nosocomial. Todos os pacientes usaram esquema de antibioticoterapia na UTI. Em relação à alta dos pacientes 12 tiveram alta por melhora do quadro clínico 12(60%), 6(30%) foram à óbito e 2(10%) foram transferidos. Em Conclusão, os pacientes com a Doença Falciforme apesar de apresentarem quadros clínicos muito graves evoluíram, na sua maioria, com melhora do quadro clínico devido à assistência da UTI.

0203

Anemia hemolítica não imune com Coombs positivo: Relato de caso

Silva HF, Barbosa SA, Brasileiro RB, Moreira MR, Vieira EM, Oliveira DS, Menezes CN, Cardoso FP, Batista KD, Barbosa OA

Hospital Geral César Cals de Oliveira - HGCCO, Fortaleza, CE

Introdução: A Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) é uma doença clonal da célula hematopoética, que cursa com hemólise intravascular, fenômenos trombóticos venosos e arteriais, e hematopoese ineficaz. A nível molecular a HPN é caracterizada por deficiência ou ausência de moléculas ancoradas pela proteína Glicosil-fosfatidil-inositol (PIG), especialmente CD55 e CD59, deixando, portanto, as células alteradas vulneráveis à hemólise por frações do complemento. Esta alteração é oriunda de mutação adquirida no gene *PIG-A* localizado no cromossomo X. Estudos indicam que o Sistema Complemento descontrolado determina a patogênese multifatorial de eventos trombóticos na HPN. A detecção de deficiência de CD55, CD59, CD16 e CD66 em eritrócitos e neutrófilos através da citometria de fluxo é considerada o padrão-ouro para o diagnóstico. **Métodos:** Estudo clínico-laboratorial do caso. **Relato de Caso:** homem, 21 anos, natural e procedente de Maranguape, CE, conferidor de mercadoria, apresentou em maio de 2012 adinamia associada a urina escurecida, piorando na semana seguinte. Evoluindo com palidez cutâneo-mucosa e dificuldade na realização das atividades diárias. Após lipotímia e diaforese, procurou assistência médica local, onde foram realizados hemograma que revelou Hb=6,7 mg/dL e teste de Coombs direto positivo. Permaneceu 15 dias internado e recebeu 5 concentrados de hemácias. Evoluiu com pancitopenia, Hb=5,1mg/dL, Leuc=840mm³ e Pla=77.000/mm³. O mielograma apresentou hiperplasia da série eritróide e hipoplasia granulocítica e megacariocítica. Foi encaminhado para Unidade de Hematologia do Hospital Geral César Cals de Oliveira, Fortaleza-CE, para investigação diagnóstica, onde os exames de admissão revelaram Hb=8,37mg/dL, Leuc=1190mm³,

Pla=58.600/mm³, LDH=1907U/L, bilirrubina total=3,53mg/dL (BI=2,43mg/dL, BD=1,10mg/dL) e sedimento urinário normal. Realizou imunofenotipagem de sangue periférico, por citometria de fluxo, que revelou diminuição de expressão de CD55 e CD59 em eritrócitos e granulócitos, além de ausência de CD14 nos granulócitos, confirmando o diagnóstico de HPN. **Conclusão:** Apesar de ser uma doença rara, a investigação precoce e diagnóstico correto da HPN é de grande importância devido à cronicidade da doença, que pode ter um grande impacto na qualidade de vida e sobrevida dos pacientes. Deve-se avaliar pacientes com risco mais elevado quanto à existência da HPN em Aplasia de Medula, Síndrome Mielodisplásica subtipo anemia refratária, hemoglobinúria, citopenias inexplicadas, trombose inexplicada, anemia hemolítica Coombs negativo e, como no caso relatado, os pacientes com anemia hemolítica com Coombs positivo atípica, os quais geralmente não estão na abordagem diagnóstica de HPN.

0204

Perfil epidemiológico dos pacientes portadores de doença falciforme atendidos no ambulatório de hematologia da Fundação HEMOPA

Paula JG1, Cardoso MD2, Pereira LM2, Ferreira MD2, Silva GM2

¹ Universidade do Estado do Pará – UEPA, Belém, PA

² Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – Hemopa, Belém, PA

Introdução: A Doença Falciforme (DF) é uma desordem genética da hemoglobina, com alta prevalência no Brasil. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), atualmente, cerca de 300 mil bebês nascem com a doença falciforme a cada ano em todo o mundo. **Objetivo:** Traçar o perfil epidemiológico dos pacientes portadores da anemia falciforme acompanhados pelo ambulatório de pacientes da Fundação Hemopa. **Métodos:** Consiste em um delineamento descritivo, de caráter quantitativo desenvolvido no ambulatório de hematologia da Fundação Hemopa no ano de 2011, em que atenderam 560 pacientes ativos no Sistema de Consultas (SISCON). A obtenção de dados foi realizada através de um questionário direcionado aos prontuários dos pacientes com DF cadastrados e ativos na Fundação Hemopa, abordando as seguintes variáveis: idade, raça, sexo, estado civil, escolaridade, naturalidade, procedência, ocupação e formas da doença, além de dados relacionados ao número de transfusões de hemácias e número de consultas médicas realizados no hemocentro coordenador no ano de 2011. **Resultados:** A idade dos pacientes variou entre menor de 1 ano e 61 anos, tendo como média de 45,92 anos. Sendo que a maioria está entre 6 e 25 anos, totalizando 67,68% da amostra. Foram encontrados 52,86% do gênero feminino e 47,14% são do gênero masculino. Sobre seu pertencimento étnico, obtivemos os seguintes dados: 88,93% são classificados como pardos; 6,43% são definidos como brancos; 3,04% se classificaram negros e 1,43% não informaram a etnia. A prevalência é maior de pacientes que possuem hemoglobinopatias do tipo SS (53,93%), seguido de 33,75% para SF, 10,89% de pacientes do tipo SC e 1,43% de pacientes que possuem Hb SD. Os pacientes que apresentam a hemoglobinopatia tipo SS realizaram maior número de transfusões, tendo como média de 1,21; os pacientes que possuem a doença falciforme do tipo SF, realizaram em média 0,98 transfusões; 0,18 transfusões para pacientes com hemoglobinopatias SC, e do tipo SD não realizaram transfusões durante o ano de 2011. **Conclusão:** A investigação do perfil epidemiológico dos pacientes portadores de DF foi de extrema importância para conhecermos a população distribuída no Estado do Pará. Visto que, é necessário conhecer, para se aplicar ações capazes de melhorar a qualidade de vida dessas pessoas. Além disso, despertar o interesse por esta temática pela comunidade acadêmico-científica no Estado do Pará, pois há escassez de pesquisas dentro dessa perspectiva.

0205

Análise preliminar do estudo de doppler transcraniano em pacientes com doença falciforme No Hospital De Transplantes Dr. Euclydes Jesus Zerbini /Hospital Brigadeiro, São Paulo

Paladino SF¹, Melo ER¹, Zanichelli MA², Melnikoff KT¹, Fonseca PB³, Kovich DT³, Padua S⁴, Sena EV⁴, Perobelli LL¹

¹ Hospital de Transplantes Dr. Euclydes de Jesus Zerbini/Hospital Brigadeiro, São Paulo, SP

² Instituto da Criança, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - HC-FMUSP, São Paulo, SP

³ Hospital Infantil Darcy Vargas – HIDV, São Paulo, SP

⁴ Hospital Infantil Candido Fontoura, São Paulo, SP

Exames feitos em aparelho de ultrassom Toshiba Xario com sonda setorial PST 50 BT 3 MHz. Paciente em decúbito dorsal e com a sonda em janela temporal são identificadas as artérias cerebrais média, anterior, posterior, porção intracraniana da carótida interna, direita e esquerda. Paciente em decúbito lateral e com a sonda em janela occipital são identificadas as artérias vertebrais direita e esquerda e artéria basilar. Após identificação das artérias, são encontrados os picos de velocidades médias para cada uma delas adotando os seguintes valores de referência: N < 150 cm/s; condicional entre 150 e 170 cm/s; patológico >170 cm/s. As velocidades das artérias cerebrais anterior e posterior não podem superar a velocidade da artéria cerebral média. As velocidades das artérias podem aumentar durante episódios de crises dolorosas e infecções em qualquer idade e voltam ao normal após 30 a 90 dias em média. Foram realizados 386 exames no período de 14/8/2009 a 27/06/2012: 189 pacientes masculinos, 197 pacientes femininos. Idades entre 13 meses a 70 anos, mediana de 35,55 anos. Todos com doença falciforme: 316 SS, 25 Sβtalassemia, 26 SC, 1 CC, 18 não foram informados, 311 exames normais, 34 exames condicionais (8,8%) idades entre 2 a 19 anos, mediana 10,5; 41 exames patológicos (10,62%) idades entre 2 a 70 anos, mediana 36. Não apresentaram janela temporal: 6 pacientes: 1CC, 5 SS, idades de 9 a 15 anos e 1 paciente com 69 anos. Artérias acometidas: a. cerebral média direita - 46,61%; a. cerebral média esquerda - 23,72%; a. cerebral anterior direita - 8,47%; a. cerebral anterior esquerda - 6,77%; a. cerebral posterior esquerda - 6,67%; a. cerebral posterior direita - 3,38%; a. carótida interna intracraniana esquerda - 0,84%; a. vertebral direita - 3,54%; a. vertebral esquerda - 0,84%; a. basilar - 3,38%.

0206

Estudo do perfil pró-trombótico e sua correlação com manifestações clínicas de pacientes com doença falciforme

Coelho HV¹, Lima LG¹, Ferreira FS¹, Pontes RM¹, Medeiros JF², Siqueira PF¹, Zingali RB¹, Fleury MK¹, Serrão LW¹

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

² Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, Rio de Janeiro, RJ

A doença falciforme (DF) é uma anomalia genética onde ocorre uma mutação pontual na cadeia β da hemoglobina, gerando a hemoglobina S (HbS). A HbS apresenta uma diminuição de solubilidade e aumento de polimerização quando desoxigenada, levando a deformidade dos eritrócitos, eventos estes que podem levar a oclusão, em diferentes regiões, da microcirculação ou de grandes vasos causando infarto de vários tecidos e órgãos, conhecido como crises vaso-oclusivas. Dentre os fatores determinantes da gravidade clínica da DF pode-se destacar o estado de hipercoagulabilidade, causado pela perda da assimetria de membrana dos eritrócitos falcêmicos e células endoteliais, levando a um aumento

de expressão de fosfatidilserina, de fator tecidual (TF) e a geração de micropartículas (MP) que contribuem para a ativação da cascata de coagulação. Micropartículas são pequenas vesículas, formadas a partir da membrana das células, que são liberadas por brotamento durante a ativação celular ou processo de apoptose. Neste trabalho, pretendemos avaliar o perfil pró-trombótico, quantificar e caracterizar a origem das MP dos pacientes falcêmicos, com o intuito de desenvolver um padrão laboratorial que possa prever as crises vaso-oclusivas, podendo assim auxiliar no tratamento dos mesmos. Inicialmente, testamos o plasma dos pacientes em ensaios de coagulação e podemos observar uma tendência na diminuição do tempo de tromboplastina parcialmente ativada (TTPa), demonstrando um estado pró-coagulante. Em seguida, purificamos e quantificamos as MP, além da avaliação da presença de fosfatidilserina (FS) em sua superfície. Dados preliminares demonstraram um aumento do número de MP, assim como a presença de aumentada de fosfatidilserina, em um grupo de pacientes com doença falciforme, reforçando, portanto o aspecto pró-coagulantes encontrados anteriormente. Como perspectivas futuras, pretendemos aumentar o número de pacientes estudados, além de quantificar outros aspectos pró-trombóticos e assim ser capaz de estabelecer um padrão que possa colaborar na previsão das crises vaso-oclusivas dolorosas.

0207

Influência da talassemia alfa no desenvolvimento de úlceras de membros inferiores em pacientes portadores de anemia falciforme no Estado de Pernambuco

Falcão DA^{1,2}, Domingos IF^{1,2}, Laranjeira LP^{1,2}, Laranjeira RS^{1,2}, Martins DA¹, Silva RR^{1,2}, Hatzlhofer BL^{1,2}, Araújo AS², Fertrin KY³, Bezerra MA^{1,2}

¹ Centro de Ciências Biológicas – LABCEN, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Caruaru, PE

³ Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: A anemia falciforme (AF) é a anemia hemolítica mais comum no Brasil. É uma doença que se origina de uma mutação pontual e sua fisiopatologia é caracterizada pela polimerização da HbS, levando a formação de uma hemácia em forma de foice. Essa hemácia falcizada leva à hemólise e vaso-oclusão, que são responsáveis pelas principais manifestações clínicas da doença, como as úlceras de membros inferiores. As úlceras de membros inferiores afetam consideravelmente a qualidade de vida dos pacientes com AF, e apesar de não apresentarem uma causa muito bem definida, variantes polimórficas de alguns genes, bem como o genótipo alfa, podem influenciar no seu desenvolvimento. A associação da talassemia α com a AF diminui a hemólise, e protege contra fenótipos associados com os processos hemolíticos, como úlcera maleolar, priapismo e acidente vascular cerebral. **Objetivo:** Verificar a associação do genótipo α com o desenvolvimento da úlcera de membros inferiores em pacientes com AF. **Métodos:** Foram analisados 148 pacientes com AF cadastrados na Fundação HEMOPE. Destes, 64 pacientes, desenvolveram úlceras de membros inferiores em algum momento da vida, definindo o grupo caso do presente estudo e o grupo controle consistiu de 84 pacientes, sem história atual e prévia de úlcera. A pesquisa da deleção α^{3.7kb}(-α^{3.7kb}) foi determinado por gap-PCR e a análise estatística, pelo teste exato de Fisher. **Resultados:** Dos 64 pacientes incluídos no grupo caso, 55 (85,9%) se apresentaram normais para a deleção, e 9 (14,1%) apresentaram a mutação. No grupo controle, dos 84 pacientes, 61 (72,6%) foram normais para -α^{3.7kb} e 23 (27,4%) apresentaram a deleção. A deleção α^{3.7kb} não apresentou diferença estatisticamente significante entre os grupos caso e con-

trole ($p=0,069$). **Conclusão:** Pacientes com AF e co-herança com α talassemia parecem apresentar uma menor tendência a desenvolver úlceras de membros inferiores em relação a pacientes AF com genótipo alfa normal, embora esses Resultados não tenham sido estatisticamente significantes. Isso pode ser explicado, pelo baixo número de pacientes. Uma amostragem mais significativa está sendo coletada, para verificar a real influência da talassemia α como fator protetor das manifestações hemolíticas da AF, tais como as úlceras de membros inferiores. **Palavras-chave:** anemia falciforme; úlceras de membros inferiores; talassemia alfa. **Supor-te financeiro:** FACEPE CNPq

0208

Influência do polimorfismo da região promotora do gene eNOS -786 (t->c) no desenvolvimento de úlceras de membros inferiores em pacientes portadores de anemia falciforme no Estado de Pernambuco

Falcão DA^{1,2}, Domingos IF^{1,2}, Laranjeira LP^{1,2}, Laranjeira RS^{1,2}, Martins DA¹, Araújo NB^{1,2}, Medeiros FS^{1,2}, Hatzlhofer BL^{1,2}, Araújo AS², Bezerra MA^{1,2}

¹ Centro de Ciências Biológicas - LABCEN - Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Caruaru, PE

Introdução: As úlceras de membros inferiores são uma das manifestações clínicas mais comuns na anemia falciforme (AF), uma doença monogênica, de caráter multifatorial, e com uma grande diversidade clínica entre os pacientes. Estão presentes entre 8% a 10% dos pacientes homocigotos, atingindo percentual maior que 50% em pacientes que residem em áreas tropicais. Essas úlceras ocorrem devido a vaso-oclusão, hipóxia tecidual, hemólise e fatores genéticos, apresentando cicatrização lenta e alta taxa de recorrência, além de grande susceptibilidade à infecção. Estudos recentes, têm evidenciado que seu desenvolvimento pode estar relacionado com o polimorfismo T-786C do gene da eNOS codificante da enzima óxido nítrico sintetase (eNOS) levando a uma menor produção deste composto, diminuindo sua biodisponibilidade e aumentando a hemólise. **Objetivo:** Investigar a associação do polimorfismo na região promotora do gene da eNOS (T-786C) com desenvolvimento da úlcera de membros inferiores em pacientes com AF. **Métodos:** A pesquisa do polimorfismo da região promotora do gene eNOS -786 (T->C) foi determinado por PCR-RFLP, utilizando a endonuclease de restrição *Msp* I e a análise estatística foi feita pelo teste exato de Fisher. Um total de 147 pacientes com AF acompanhados no ambulatório de Hematologia da Fundação HEMOPE foram incluídos no estudo. Destes, 66 pacientes, desenvolveram úlceras de membros inferiores em algum momento da vida, definindo o grupo caso do presente estudo e o grupo controle consistiu de 81 pacientes, sem história atual e prévia de úlcera. **Resultados:** O estudo do polimorfismo T-786C do gene da eNOS, não apresentou diferença significativa quando comparamos os grupos casos e controles ($p=0,24$). Dos 66 pacientes incluídos no grupo caso, 28 (42,4%) se apresentaram normais (TT), e 38 (57,6%) apresentaram o polimorfismo (TC+CC). No grupo controle, dos 81 pacientes, 43 (53,1%) não apresentaram o polimorfismo (TT), e 38 (46,9%) apresentaram o polimorfismo (TC+CC). **Conclusão:** O efeito de mau prognóstico do polimorfismo T-786C do gene da eNOS não foi confirmado em nossa população de pacientes com anemia falciforme. A heterogeneidade genética entre diferentes populações pode explicar a falta de reprodutibilidade do estudos de associação genética, justificando novos estudos em colaboração mundial para determinar a relevância real dos Resultados envolvendo polimorfismos genéticos e sua influência sobre a prevalência e previsibilidade de complicações clínicas na AF. **Palavras-chave:** anemia falciforme; úlceras de membros inferiores; gene da eNOS (T-786C) **Supor-te financeiro:** FACEPE CNPq.

0209

The involvement of expression of peroxiredoxins in thalassemics and sickle cell anemia patients

Romanello KS¹, Nagamatsu ST¹, Brugnerotto AF², Franco-Penteado CF², Branco DS², Lopes KK¹, Malavazi I¹, Olivera MA³, Netto LE⁴, Costa FF², Cunha AF¹

¹ Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP

² Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

³ Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, SP

⁴ Universidade de São Paulo – USP, SP

Reactive Oxygen Species (ROS) are generated by the incomplete reduction of oxygen during metabolic processes, exposure to external agents and as a secondary response to several diseases and when in excess, can cause injury to tissues and cells. During the evolution process, cells have developed several antioxidant mechanisms. One of such mechanisms encompasses the peroxiredoxins (Prdxs), which are highlighted for their abundance and high reactivity with their substrates. In humans, six different Prdxs have been described as located in different cellular compartments. In erythrocytes, Prdxs, particularly Prdx2, is the second most abundant protein, indicating its possible role in the cell development and their maintenance. However, there are few studies connecting these proteins to erythroid diseases, especially in hemolytic anemias, that have a high ROS production, such as beta thalassemia and sickle cell disease (SCD). This study evaluated the role of Prdxs in reticulocytes of patients with the diseases described above, compared to reticulocytes of health blood donors, using Real Time PCR and proteins will be analyzed by Western blot. Our preliminary results showed in thalassemic and SCD patients a reduction in mRNA levels of Prdx 6. Prdx3 was up-regulated in thalassemic patients and down regulated in SCD. In contrast, high levels of Prdx5 transcript was found in SCD patients while its abundance was lower in thalassemic. Also, the Prdx2 transcript showed a significant decrease in thalassemic patients compared to controls and no difference was observed for SCD patients. Prdx4 was undetected in any cells types. This is the first study correlating gene expression of peroxiredoxins family in these hemolytic anemias. The results could contribute in better understand the role of these protein in identification of targets that could help in the management of diseases and improve the survival of these patients. **Keywords:** hemolytic anemias; peroxiredoxins; reactive oxygen species. **Financial Support:** FAPESP, CAPES, CNPQ.

0210

Molecular markers of thrombosis in sickle cell anemia

Cerqueira BA¹, Boas WV², Pitanga T², Zanette A³, Goncalves MS⁴

¹ Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, Ilhéus, Bahia

² Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – FIOCRUZ, Salvador, Bahia

³ Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia – HEMOBA, Salvador, BA

⁴ Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia – UFBA, Salvador, BA

Sickle cell anemia (SCA) is a severe monogenic disorder cause by a single *beta globin* gene polymorphism. The clinical profile is extremely wide, where episodes of pain, stroke, acute chest syndrome and priapism are frequently reported. These clinical events are guided by vascular occlusion with ischaemia-reperfusion, endothelium and circulating cells activation and pro-coagulant state linked to inflammatory and oxidative stress imbalance. We examined polymorphisms in genes involving on thrombotic events like *MTHFR* 677C>T and *MTHFR* 1298A>C, *Prothrombin* 20.210G>A

and *Factor V Leiden* 1691G>A associating with medical history and laboratory markers. The study was approved by the FIOCRUZ human ethical research board and informed consents were signed by patients or official responsible. A prospective study was developed among 125 steady-state SCA children aging 8.82 ±3.94 years, with 57 female. The control group was compound by 200 healthy Brazilian, with AA hemoglobin pattern matched by age, years and ethnic origin. The polymorphisms were characterized by PCR-RFLP and genotypic and allelic distribution of all polymorphisms was in Hardy-Weinberg equilibrium. Painful events were more frequent clinical manifestation on this group of patients (83%), while only one patient present leg ulcer. The genotype frequencies of the *MTHFR* 677C>T, *MTHFR* 1298A>C, *Prothrombin* 20.210G>A and *Factor V Leiden* 1691G>A were not difference among cases and control group. The mutant alleles of SNPs studied were not associated with hematological parameters and with clinical profile. However, SCA patients with *MTHFR* 1298A>C mutant allele present lower concentration of fetal hemoglobin (OR=3.03; $p = 0.046$). Thereby, these SNPs should be performed in additional studies with a large group of patients to evaluating the influence of these pro-coagulant state and the contribution in the pathophysiology of vascular events in SCA. **Keywords:** Sickle Cell Anemia, Vascular occlusion, Polymorphisms.

0211

Associação de polimorfismos no gene *BMP6* em pacientes com osteonecrose portadores de anemia falciforme

Pereira TM^{1,2}, Mendona TF³, Vasconcelos LR³, Hatzlhofer BL^{1,2}, Domingos IF^{1,2}, Falcão DA^{1,2}, Moura PM³, Cavalcanti MD³, Araújo AS², Bezerra MA^{1,2}

¹ Centro de Ciências Biológicas – LABCEN, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Caruaru, PE

³ Universidade de Pernambuco - UPE, Recife, PE

Introdução: Na anemia falciforme (AF) a ocorrência de vaso oclusões, representa o evento fisiopatológico determinante na origem dos sinais e sintomas clínicos desenvolvidos pelos pacientes. O processo pode ocorrer em qualquer órgão, sendo particularmente comum na medula óssea, resultando em infarto na cavidade medular, ou nas epífises. A necrose avascular (AVN) ocorre quando a vaso oclusão resulta no infarto das superfícies articulares, atingindo principalmente as epífises dos ossos longos (cabeça de fêmur e úmero), e que pode variar em frequência e gravidade na AF. Proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) estão envolvidas com processo de inflamação, reparo e manutenção da cartilagem articular, logo podem ter papel importante na patogênese da AVN. SNPs no gene *BMP6* têm sido associados como fatores de risco para o desenvolvimento da AVN em pacientes com AF. **Objetivo:** Verificar se há associação de SNPs no gene *BMP6* com o desenvolvimento da AVN em pacientes com AF em nossa população. **Métodos:** Este é um estudo de coorte em que foram estudados 150 pacientes portadores de AF cadastrados na Fundação HEMOPE. Destes, 50 com AVN, denominados casos, com idade de 6 a 54 anos, mediana de 29 anos, sendo 52% do sexo masculino e 100 pacientes controles, com idade de 22 a 72 anos, mediana de 32, sendo 49% do sexo masculino. A determinação dos SNPs rs449853 (A/T), rs381263 (A/T), rs267201 (A/G), rs267196 (A/T) foi realizada por PCR em tempo real, através da metodologia *TaqMan*® SNP Genotyping Assays. **Resultados:** As populações estavam em equilíbrio de Hardy Weinberg. A frequência dos genótipos CC, CT e TT no SNP rs449853 nos casos foi de 0,40 (n=20), 0,38 (n=19) e 0,22 (n=11), respectivamente, e nos controles foi de 0,26 (n=26), 0,54 (n=54) e 0,20 (n=20) com $p = 0,88$. A frequência dos genótipos AA, AT e TT no SNP rs381263 nos casos foi de 0,40 (n=20), 0,50 (n=25) e 0,10 (n=05), respectivamente, e nos

controles foi de 0,40 (n=40), 0,47 (n=47) e 0,13 (n=13), com $p = 0,28$. No SNP rs267201 a frequência dos genótipos AA, AG e GG nos casos foi de 0,40 (n=20), 0,46 (n=23) e 0,14 (n=7), respectivamente, e nos controles 0,31 (n=31), 0,48 (n=48), e 0,21 (n=21), sendo $p = 0,42$. No SNP rs267196 a frequência dos genótipos AA, AT e TT nos casos foi de 0,12 (n=6), 0,44 (n=22) e 0,44 (n=22), respectivamente, e nos controles 0,19 (n=19), 0,44 (n=44) e 0,38 (n=38) com $p = 0,52$. **Conclusão:** O estudo revelou que não houve diferença significativa entre os SNPs no gene *BMP6* nos grupos caso e controle para AVN nos pacientes portadores de AF em nossa população, contudo, uma amostragem maior de pacientes já está sendo coletada para definir com maior reprodutibilidade o papel do gene *BMP6* como marcador de prognóstico para osteonecrose. **Palavras-chave:** Anemia falciforme, Osteonecrose, *BMP6*. **Apoio Financeiro:** Fapece, CNPq.

0212

Frequência das mutações H63D E C282Y no gene *HFE* em anemia falciforme, beta talassemia heterozigota e em indivíduos sem hemoglobinopatias

Salvarani M¹, Ferreira MN¹, Chinelato IS¹, Carrocini GC¹, Lobo CL², Bonini-Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP

² Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

A hemoglobina S (HbS) é causada por uma mutação no gene da *beta globina* e a forma mais grave da doença, a anemia falciforme, é caracterizada pela presença do alelo mutado em homozigose (Hb SS). Por sua vez, a talassemia beta é decorrente de alteração quantitativa na síntese da *beta globina*, resultando em anemia de característica microcítica e hipocrômica. Dentre as consequências ocorridas nestas afecções está a sobrecarga de ferro, proveniente do intenso processo de hemólise das células e transfusões. O gene *HFE* está envolvido no metabolismo do ferro e mutações nesse gene afetam a absorção desse elemento que se acumula no organismo levando a danos nos órgãos. O objetivo deste trabalho foi verificar a frequência das mutações H63D e C282Y no gene *HFE* em pacientes com anemia falciforme, portadores de talassemia beta heterozigota e grupo controle sem hemoglobinopatias. Foram analisadas 587 amostras de sangue periférico de indivíduos adultos com anemia falciforme, 139 amostras de portadores de talassemia beta heterozigota e 104 amostras do grupo controle, totalizando 830 amostras. Todas as amostras foram submetidas aos testes clássicos de triagem para hemoglobinopatias e análise cromatográfica por HPLC. A análise molecular para a HbS e para as mutações no gene *HFE* foi realizada por PCR-RFLP, e a genotipagem dos talassêmicos foi realizada por PCR-AE. As mutações H63D e C282Y foram encontradas em maior número nos pacientes com anemia falciforme (65,41%), seguido pelos portadores de beta talassemia heterozigota (33,09%) e indivíduos do grupo controle (31,73%). Nos três grupos avaliados a mutação H63D esteve mais presente que a C282Y (52,04% e 3,73%, respectivamente). Nos pacientes com anemia falciforme foram encontrados 360 (61,3%) heretozigotos e nove (1,5%) homozigotos para a mutação H63D, e 15 (2,55%) heterozigotos para a mutação C282Y. Dentre os portadores de beta talassemia, 32 (23%) apresentaram perfil heterozigoto e quatro (2,8%) homozigotos para a mutação H63D, e 10 indivíduos (7,1%) foram heterozigotos para a C282Y. No grupo controle, 26 indivíduos (25%) foram heterozigotos para a mutação H63D, um indivíduo (0,9%) apresentou perfil homozigoto para a mutação H63D e seis indivíduos (5,7%) foram heterozigotos para a mutação C282Y. A mutação C282Y não foi encontrada em homozigose nos grupos avaliados. A diferença encontrada em relação à presença das

mutações H63D e C282Y nos portadores de anemia falciforme, beta talassemia heterozigota e indivíduos sem alterações de hemoglobinas pode estar relacionada aos diferentes grupos étnicos envolvidos na formação das populações analisadas, reforçando a influência da miscigenação da população brasileira. Nossos Resultados mostram a necessidade de maiores estudos sobre a relação entre as mutações de hemoglobinas e as no gene *HFE*, para entendimento do perfil de ferro nesses pacientes. **Palavras-chave:** HbS, beta talassemia heterozigota, gene *HFE* **Apoio financeiro:** Ministério da Saúde, FUNDARJ, FAPESP, CAPES

0213

Polimorfismo G-463a no gene da mieloperoxidase e sua associação com os quadros infecciosos em pacientes com anemia falciforme

Hirata OA^{1,2}, Medeiros FS^{1,2}, Araújo NB^{1,2}, Lima AS^{1,2}, Anjos AC², Araujo FA², Melo AL¹, Hatzlhofer BL^{1,2}, Bezerra MA^{1,2}, Araújo AS²

¹ Centro de Ciências Biológicas – LABCEN, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Caruaru, PE

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma doença monogênica caracterizada por manifestações clínicas bastante variáveis. As infecções estão entre as principais complicações encontradas em crianças portadoras. Os mecanismos que tornam os indivíduos mais suscetíveis à infecção ainda não estão esclarecidos, porém a redução da função esplênica tem sido apontada como fator contribuinte nos primeiros anos de vida, para maior exposição a microrganismos encapsulados. Além disso, evidências sugerem que o polimorfismo na região promotora (G > A, posição – 463) do gene que codifica a enzima mieloperoxidase (MPO) pode ser um importante modulador genético das infecções em pacientes portadores de AF. A MPO é uma enzima lisossomal e integrante da resposta imune inata, desempenha importante papel na defesa do organismo ao ser liberada de grânulos azurófilos de células fagocitárias após processo de desgranulação. Estudos relatam a associação do desenvolvimento de infecções com a menor transcrição do gene da MPO. **Objetivos:** Verificar se o polimorfismo G-463A no gene da MPO atua como fator modulador nos eventos infecciosos em crianças portadoras de AF diagnosticadas e acompanhadas no Programa de Triagem Neonatal do Hospital HEMOPE, Recife-PE. **Métodos:** Um total de 182 crianças com AF até 10 anos de idade foram divididas em grupo 01, com 107 pacientes que apresentaram uma ou mais infecções e o grupo 02 com 75 pacientes que não tiveram infecção. Os dados clínicos e laboratoriais foram obtidos pela análise de prontuários dos pacientes que comparecem regularmente ao ambulatório. A extração de DNA genômico foi realizada pela técnica de fenol-clorofórmio a partir do sangue periférico. A detecção do polimorfismo G-463A da MPO foi realizada por PCR, seguida de análise de restrição com Acl1. **Resultados:** Dos 182 pacientes falciformes estudados, 93 (51.3%) possuem o genótipo heterozigoto, normal 77 (42.33%) e 12 (6.59%) têm o genótipo homozigoto. Ao analisar o grupo de pacientes com infecção (107) foi encontrada alta frequência de infecções respiratórias 97 (53,30%), seguida de infecções gastrointestinais 28 (15.38%) e urinárias 20 (10.99%) e cerca de 20% dos pacientes tiveram mais de um tipo de infecção durante o seu segmento clínico. A frequência de alelos do grupo 01 foi de 33.2% para o alelo A (mutante) e 66.8% para o alelo G (selvagem) e no grupo 02 30.7% do alelo A e 69.3% do alelo G. A frequência dos genótipos encontrados entre os pacientes AF do grupo 01 foi de 47.7% heterozigotos (AG), 9.3% homozigotos (AA) e 43.0% normais (GG) e no grupo 02 56.0% AG, 2.7% AA e 41.3% GG. Em relação aos parâmetros clínicos analisados, a maior parte dos pacientes com infecção apresentou mais de uma crise vaso-oclusiva (p=0,005) e essa per-

centagem cresce com a idade (p=0,002). O sequestro esplênico e a esplenectomia, também foi representativo no grupo com infecção (p=0,004 e p=0,001, respectivamente). **Conclusão:** Os dados obtidos sugerem que o polimorfismo G-463A da MPO não parece ser um marcador prognóstico de eventos infecciosos em crianças portadoras de AF, Resultados divergentes foram encontrados em estudos prévios realizados em adultos. Possivelmente mais anos de vida podem ser necessários para melhor avaliar a influência desse marcador nas infecções de pacientes com AF na nossa região. **Suporte financeiro:** FACEPE CNPq

0214

Influência do polimorfismo do gene *UGT1A1* nos níveis de bilirrubina em pacientes com anemia falciforme

Medeiros FS^{1,2}, Pereira TM^{1,2}, Hirata OA^{1,2}, Farias IC^{1,2}, Araújo NB^{1,2}, Caldas AC^{1,2}, Santos MN³, Hatzlhofer BL^{1,2}, Araújo AS², Bezerra MA^{1,2}

¹ Centro de Ciências Biológicas – LABCEN, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Caruaru, PE

³ Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: O fenótipo dos pacientes com anemia falciforme (AF) pode ser modificado pela ação de fatores genéticos não ligados ao *cluster* dos genes globínicos. Dentre esses fatores está o polimorfismo na região promotora do gene *UGT1A1* que leva a transcrição ineficiente do gene e diminuição na atividade enzimática da UDP-glicuroniltransferase 1A1 (*UGT1A1*), que está associado com a Síndrome de Gilbert (SG). As bases moleculares dessa síndrome consistem na inserção de um dinucleotídeo adicional (TA) na configuração A(TA)_nTAA da região promotora no gene *UGT1A1*. Essa configuração pode variar no comprimento, onde o “n” representa um número diferente de repetições TA. Indivíduos normais usualmente possuem homozigose para o alelo (TA)₆. Os genótipos [(TA)₇]/(TA)₇ e (TA)₇/(TA)₆ estão envolvidos na hiperbilirrubinemia, icterícia e formação de cálculos biliares na SG. Em pacientes portadores de AF, a SG pode ser fator de risco para colelitíase, devido ao aumento da concentração de bilirrubina indireta na bile agravando o quadro clínico desses pacientes. **Objetivos:** Determinar a frequência dos genótipos do gene *UGT1A1* e avaliar se os genótipos relacionados à SG estão associados a níveis aumentados de bilirrubina total (BT) e bilirrubina indireta (BI) em pacientes portadores de AF acompanhados no ambulatório de Triagem Neonatal da Fundação HEMOPE. **Métodos:** Foram genotipadas 153 crianças portadoras de AF. A região promotora do gene *UGT1A1* foi analisada por genotipagem no sequenciador automático. Esses pacientes foram divididos em 3 grupos de acordo com seus genótipos do gene *UGT1A1*: GI [(TA)₆]/(TA)₆ e heterozigotos com pelo menos um alelo (TA)₆, GII [(TA)₆]/(TA)₇ e (TA)₆/(TA)₈ e GIII [(TA)₇]/(TA)₇ e (TA)₇/(TA)₈, associados respectivamente com baixos, intermediários e altos níveis de bilirrubina. As variáveis contínuas foram comparadas entre os grupos pelo teste de Mann Whitney. O critério de significância utilizado foi de p<0,05. **Resultados:** Das 153 amostras analisadas foram encontrados os 4 alelos previamente descritos no promotor do gene *UGT1A1*, nas respectivas frequências: 3,0% (TA)₅, 55,2% (TA)₆, 38,2% (TA)₇ e 3,6% (TA)₈. No estudo dos genótipos *UGT1A1*, a média de BT nos pacientes do GI foi: 1,68±0,85 mg/dL; do GII: 1,80±0,96 mg/dL e do GIII: 3,38±2,50, e a média de BI nos pacientes do GI foi: 1,29±0,68 mg/dL; do GII: 1,47±0,88 mg/dL e do GIII: 2,97±2,50. A média de BT e BI nos pacientes do GIII foram significativamente mais altas (p<0,0010) e (p<0,0011), respectivamente, em relação às médias de BT e BI dos pacientes dos Grupos I e II. A frequência para a SG nos pacientes analisados foi de 13,0%. Em nossa população de estudo, apenas 2 pacientes desenvolveram colelitíase, sendo um com o

genótipo (TA)₈/(TA)₇, e o outro com o genótipo (TA)₇/(TA)₇. A ocorrência de colelitíase somente em dois pacientes pode ser atribuída à idade (média 6,8 anos), que também tem sido considerada um fator predisponente para esta manifestação clínica. **Conclusão:** A análise genotípica do gene *UGT1A1* mostrou que pacientes com genótipos [(TA)₇/(TA)₇] e [(TA)₇/(TA)₈] parecem ter maior probabilidade de apresentarem níveis séricos elevados de bilirrubinas. Portanto, o polimorfismo na região promotora do gene *UGT1A1* é um importante modificador genético quanto ao risco de propensão à formação de cálculos biliares por bilirrubinemia em pacientes com AF. Apoio – FACEPE/CNPq

0215

Anemia hemolítica autoimune por anticorpo quente de apresentação grave e fulminante com excelente resposta a embolização esplênica

Pereira AD, Vilela VA, Feher O, Achcar R, Borges ER, Rocha V, Novis Y, Neto SW, Rodrigues CA

Hospital Sírio-Libanês – HSL, São Paulo, SP

Introdução: A Anemia Hemolítica Autoimune (AHA) por anticorpo quente é uma doença rara, mas potencialmente fatal. Pode ser idiopática ou secundária. Os anticorpos eritrocitários são, na sua maioria, da classe IgG com atividade a 37°C, associados a complemento, muitos com especificidade para sistema Rh. As manifestações clínicas podem variar desde um quadro subclínico, até anemia de início súbito, que pode levar a cor pulmonale e até a óbito. O tratamento inicial é baseado na corticoterapia, que geralmente leva a uma resposta rápida. Entretanto, a recaída é comum. Para os casos primariamente refratários, há pouca evidência de eficácia medicamentosa e a opção com maior validação na literatura é a esplenectomia. Apresentamos um caso gravíssimo de AHA de apresentação fulminante refratária a três linha de tratamento mas com excelente resposta a embolização esplênica. Caso clínico: Paciente masculino 56 anos, sem antecedentes significativos, iniciou quadro de adinamia e icterícia com piora progressiva uma semana antes da chegada ao PS. Na investigação inicial apresentava-se descorado e icterico, com Hemoglobina (Hb): 12,7g/dL, VCM: 88fL, leucócitos: 7660/mm³, neutrófilos 6510/mm³, plaquetas 95 mil/mm³, reticulócitos 17200/mm³, com bilirrubina total de 6,25mg/dL às custas de bilirrubina indireta, DHL 1580U/L e haptoglobina menor que 6mg/dL. Evoluiu com queda rápida de 5g/dL de Hb (7,2g/dL). A pesquisa de anticorpo irregular (PAI) foi positiva em todas as células do painel de hemácias, inclusive autocontrole. Após estudo de autoadsorção foram detectados autoanticorpos mimetizando anti-C no soro do paciente. O teste de antiglobulina direta (TAD) foi positivo com anti-IgG, o eluato demonstrou autoanticorpos mimetizando anti-e, concluindo, junto com o quadro clínico, o diagnóstico de AHA por anticorpo quente. Não apresentou resposta ao tratamento inicial com prednisona 1 mg/kg, tendo sido iniciada pulsoterapia com metilprednisolona, 1g/dia, por três dias. O paciente manteve anemia grave, com níveis de Hb variando de 3,1 a 4,5g/dL, apresentando-se estável hemodinamicamente, porém com episódios de confusão mental. Recebeu transfusão de hemácias diariamente neste período crítico. Pela falta de resposta foi iniciado Rituximabe 375mg/m². O paciente manteve o quadro clínico inalterado por mais três dias, e foi optado pela imunoglobulina endovenosa 1g/kg por dois dias, que também foi ineficaz. Optou-se então pela embolização esplênica, pois o paciente não apresentava condições clínicas para esplenectomia cirúrgica. A partir deste momento houve diminuição da necessidade transfusional, com melhora progressiva da anemia. Após três semanas o Hb chegou a 10,2g/dL. A investigação para doença linfoproliferativa ou infecções virais foi negativa, e não havia evidência de neoplasia ou outra doença autoimune. Atualmente apresenta-se assintomático, com níveis estáveis de Hb acima de 14 g/dL. **Conclusão:**

Relatamos um caso de AHA por anticorpo quente de evolução dramática, que necessitou de várias linhas de tratamento devido à gravidade clínica. Apesar de não podermos confirmar qual medida terapêutica foi a principal responsável pela melhora, a evolução favorável do paciente logo após a embolização esplênica sugere que essa medida é factível em pacientes críticos com AHA e que pode ser muito eficaz no controle da hemólise.

0216

Influência dos polimorfismos -509c/t do tgfb, -308g/a do tnfa e do 313a/g da GSTP1 na hipertensão pulmonar em portadores da anemia falciforme

Belini-Junior E¹, Silva DG¹, Okumura JV¹, Torres LS¹, Zamaro PJ¹, Queiroz AM², Moschetta VA¹, Manoel BF¹, Lobo CL², Bonini-Domingos CR¹

¹ Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, São José do Rio Preto, SP
² Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A anemia falciforme (AF) é caracterizada por complicações múltiplas e alto grau de variabilidade fenotípica. Fatores genéticos associados a complicações específicas da AF podem, eventualmente, fornecer subsídios para prevenção dessas manifestações clínicas e permitir um tratamento individualizado aos pacientes. Portanto, em pacientes portadores da AF, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência dos polimorfismos -509C/T no gene TGFB (fator de crescimento transformante beta), -308G/A no gene TNFA (fator de necrose tumoral alfa) e 313A/G no gene GSTP1 (glutathione S-transferase PI 1) sobre desenvolvimento de hipertensão pulmonar (HAP) e parâmetros hemodinâmicos, de hemólise e de lesão hepatobiliar em pacientes portadores da AF. **Métodos:** Foram avaliados 46 pacientes homocigotos para a hemoglobina S (21 diagnosticados com HAP e 25 sem a HAP), sem o uso de hidroxiureia (HU), provenientes do HEMORIO/RJ. Para o diagnóstico da HAP foram utilizados os seguintes critérios: pressão sistólica arterial pulmonar (PsAP) acima de 35 mmHg, velocidade de regurgitação tricúspide (VJRT) acima de 2,5 m/s e pressão média da artéria pulmonar (PmAP) acima de 25 mmHg. Os polimorfismos avaliados foram detectados pela técnica de PCR-RFLP e os parâmetros bioquímicos foram avaliados por meio de Métodos colorimétricos e os dados obtidos por meio de consulta a prontuários. Os testes estatísticos foram efetuados pelo *software* *Statistica 8.0*. **Resultados:** As frequências genotípicas, no grupo com HAP, para o polimorfismo -509C/T do TGFB foram: nove (42,8%) pacientes CC (homocigoto selvagem), 11 (52,4%) CT (heterocigotos) e um (4,7%) TT (homocigoto mutante); para o -308G/A do TNFA: 15 (71,4%) pacientes GG (homocigoto selvagem) e seis (28,6%) AG (heterocigotos); para o 313A/G da GSTP1: oito (38,1%) AA (homocigoto selvagem), oito (38,1%) AG (heterocigoto) e cinco (23,8%) GG (homocigoto mutante). No grupo sem HAP, o polimorfismo -509C/T do TGFB foram: 14 (66,0%) pacientes CC (homocigoto selvagem) e 11 (44,0%) CT (heterocigotos); para o -308G/A do TNFA: 18 (72,0%) pacientes GG (homocigoto selvagem), seis (24,0%) AG (heterocigotos) e um (4,0%) AA (homocigoto mutante); para o 313A/G da GSTP1: 13 (52,0%) AA (homocigoto selvagem), nove (36,0%) AG (heterocigoto) e três (12,0%) GG (homocigoto mutante). Na comparação das frequências genotípicas e alélicas entre os grupos com e sem HAP, não encontramos diferença estatística significativa para nenhum polimorfismo avaliado. Com o intuito de verificar a influência dos alelos mutantes na HAP e também em outros marcadores, tais como: VJRT, lactato desidrogenase, bilirrubina, reticulócitos, aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina, isolamos os alelos (T-TGFB, A-TNFA e G-GSTP1) e verificamos que os mesmos

não exerceram qualquer influência sobre as variáveis avaliadas.

Conclusão: Os polimorfismos avaliados não demonstraram influência genotípica, sequer alélica na HAP. A falta de associação pode ser devido ao número amostral pequeno de pacientes, uma vez que, o aumento de alelos pode refletir em análises estatísticas mais robustas. Outro aspecto a ser considerado é que esses polimorfismos avaliados não apresentam associação direta com o desenvolvimento de HAP e, outros polimorfismos envolvidos na fisiopatologia da AF devem ser avaliados.

0217

Acurácia do teste bioquímico de Brewer na triagem de crianças com anemia falciforme atendidas na Fundação HEMOPE

Medeiros FS^{1,2}, Pereira TM^{1,2}, Hirata OA^{1,2}, Araújo NB^{1,2}, Laranjeira RS^{1,2}, Domingos IF^{1,2}, Laranjeira LP^{1,2}, Hatzlhofer BL^{1,2}, Bezerra MA^{1,2}, Araújo AS²

¹ Centro de Ciências Biológicas – LABCEN, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Caruaru, PE

Introdução: A enzima Glicose-6-Fosfato Desidrogenase (G6PD) catalisa a primeira etapa da via pentose fosfato e tem função de prevenir a hemólise intraeritrocitária. A enzima G6PD é codificada pelo gene G6PD que está localizado na região telomérica do braço longo do cromossomo X. Mutações no gene G6PD podem ocasionar estabilidade e/ou funcionalidade diminuída da G6PD, resultando diferentes níveis da atividade enzimática. A mutação Africana G6PD^{202A-} tem sido a mais estudada em pacientes com anemia falciforme (AF), pelo fato desta deficiência enzimática está associada a crise hemolítica, ocasionando complicações clínicas aos pacientes. Vários testes estão disponíveis no mercado, então, torna-se importante que o laboratório conheça a acurácia do método por ele selecionado, para obter Resultados de alta confiabilidade. **Objetivos:** Determinar a frequência da deficiência de G6PD, e verificar a acurácia do teste bioquímico de Brewer na detecção da deficiência de G6PD em pacientes portadores de AF acompanhados no ambulatório de Triagem Neonatal para Hemoglobinopatias da Fundação HEMOPE. **Métodos:** Foram avaliadas 175 crianças com faixa etária de 6 meses a 10 anos, portadoras de AF. A triagem de deficientes de G6PD foi realizada pelo teste colorimétrico da redução da metaemoglobina (teste de Brewer) e posteriormente a identificação molecular da mutação G6PD^{202A-} por PCR-RFLP com a utilização da endonuclease de restrição *Nla* III, a qual foi usada como padrão ouro. **Resultados:** Todas as 175 amostras foram submetidas à técnica molecular, onde foram detectados da 8,57% (15), sendo 6 homens hemizigotos (6,59%) e 8 mulheres heterozigotas e 1 homozigota (10,7%) com a mutação G6PD^{202A-}. A frequência de deficiência da G6PD estimada, pelo teste de Brewer foi de 6,85% (12) dos 175 pacientes com AF. Nossos Resultados mostram que a acurácia do teste de Brewer comparado com o método molecular foi de 97,14%, pois 2,45% (4) pacientes de 163 (negativo para o Brewer) apresentaram resultado falso negativo e 8,3% (1) de 12 (positivo para o Brewer) teve resultado falso positivo. Portanto, duas possíveis explicações para este o falso positivo seria a presença de outras mutações no gene G6PD, que não a pesquisada, ou outras causas de formação da metaemoglobina. **Conclusões:** A frequência da mutação Africana G6PD^{202A-} encontrada em nossos pacientes está de acordo com dados da literatura. Nossos Resultados mostram que o método de Brewer pode ser usado como teste de triagem para detecção da deficiência de G6PD em amostras de sangue total, uma vez que apresentou alta acurácia, além de apresentar rapidez na execução e baixo custo. Apoio – FACEPE/CNPq

0218

Lactate dehydrogenase $\geq 1.5x$ above normal is a sensitive and specific marker to identify patients at risk of clinical complications and mortality associated with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Lee JW¹, Jang JH², Kim JS³, Yoon S⁴, Lee J⁵, Kim Y⁶, Jo D⁷, Chung J⁸, Sohn SK⁹

¹ The Catholic University of Korea, Seoul, South Korea

² Department of Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, South Korea

³ Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, South Korea

⁴ Seoul National University, College of Medicine, Seoul, South Korea

⁵ Division of Hematology, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, South Korea

⁶ Hematology/Oncology, Chonnam National University Hwasun Hospital, Hwasun, South Korea

⁷ Department of Hematology/Oncology, Chungnam National University Hospital, Daejeon, South Korea

⁸ Hematology/Oncology Section, Department of Internal Medicine, Pusan National University Hospital, Pusan, South Korea

⁹ Department of Hematology/Oncology, Kyungpook National University Hospital, Daegu, South Korea

Background: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a progressive disease caused by a somatic mutation in the *PIG-A* gene that leads to deficiency of the complement protection proteins CD55 and CD59. Chronic, uncontrolled terminal complement activation leads to hemolysis, which is the underlying cause of the thromboembolism (TE), end organ damage, and early mortality associated with the disease. Lactate dehydrogenase (LDH) is a marker of red blood cell lysis, and serum levels of this enzyme in excess of 1.5 times the upper limit of normal (LDH $\geq 1.5 \times$ ULN) is considered to be suggestive of uncontrolled complement activation. TE is the leading cause of death in PNH and accounts for 40%–67% of deaths in patients with PNH. **Aims:** To evaluate whether LDH $\geq 1.5 \times$ ULN at diagnosis is predictive of TE and mortality. **Methods:** This was a retrospective analysis of 224 patients with reported LDH levels at diagnosis from the national PNH registry (N=301) in South Korea. **Results:** PNH patients with LDH $\geq 1.5 \times$ ULN at diagnosis had a 4.8-fold greater mortality rate compared with an age- and gender-matched general population (AG-MGP; $P < 0.001$), and in a multivariate analysis, LDH $\geq 1.5 \times$ ULN proved to be an independent predictor of mortality regardless of age, gender, or the presence of bone marrow disorder (*odds ratio* [OR]=10.57; 95% confidence interval [CI] 1.36, 81.93; $P = 0.024$). Patients with LDH $< 1.5 \times$ ULN had a similar mortality rate as the AGMGP ($P = 0.824$). A threshold LDH $\geq 1.5 \times$ ULN detected 93% of patient deaths and 96% of patients with TE. Analyses were also performed using LDH thresholds of $\geq 3 \times$ ULN and $\geq 5 \times$ ULN to investigate if they were more specific markers for risk of death or TE. Neither LDH $\geq 3.0 \times$ ULN (OR 1.8; 95% CI 0.78, 4.09; $P = 0.162$) nor LDH $\geq 5.0 \times$ ULN (OR 2.0; 95% CI 0.91, 4.32; $P = 0.082$) were significant predictors of early mortality. Furthermore, LDH $\geq 3.0 \times$ ULN and $\geq 5.0 \times$ ULN only detected 67% and 47% of patients who experienced a TE, respectively. **Conclusions:** These data demonstrate that chronic, uncontrolled complement activation as measured by LDH $\geq 1.5 \times$ ULN at diagnosis of PNH is a strong and independent predictor of clinical complications and mortality in PNH patients. LDH $\geq 1.5 \times$ ULN clearly identifies PNH patients with a high risk of life-threatening complications and premature mortality (4.8-fold) from the remaining population of PNH patients with normal survival. Thus, physicians should consider LDH $\geq 1.5 \times$ ULN as a strong indicator of risk for clinical complications and mortality that warrants early intervention.

0219

Elevated lactate dehydrogenase is associated with occurrence of thromboembolism and mortality within 12 months of assessment in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Jang JH¹, Lee JW², Kim JS³, Yoon S⁴, Lee J⁵, Kim Y⁶, Jo D⁷, Sohn SK⁸, Chung J⁹

¹ Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Republic of Korea

² The Catholic University of Korea, Seoul, Republic of Korea

³ Yonsei University College of Medicine, Seoul, Republic of Korea

⁴ Seoul National University Hospital, Seoul, Republic of Korea

⁵ University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Republic of Korea

⁶ Chonnam National University Medical School, Gwangju, Republic of Korea

⁷ Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea

⁸ Kyungpook National University School of Medicine, Daegu, Republic of Korea

⁹ National University, Pusan, Republic of Korea

Background: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is an acquired hematopoietic stem cell disorder caused by a somatic mutation in the *PIG-A* gene that leads to chronic, uncontrolled terminal complement activation. The subsequent red blood cell (RBC) hemolysis with platelet and leukocyte activation causes life-threatening thromboembolism (TE), chronic renal insufficiency, pain, severe fatigue, poor quality of life, and early mortality. Lactate dehydrogenase (LDH) serum level ≥ 1.5 times the upper limit of normal (LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$) is a marker of uncontrolled complement activation that has been used in multinational PNH clinical trials and was recently confirmed by our group as a sensitive marker for measuring risk of mortality and TE in patients with PNH. **Aims:** To evaluate the association of LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ with risk of TE and mortality, and to understand the impact of granulocyte clone size on the occurrence of TE and mortality. **Methods:** A retrospective analysis of a 301-patient national PNH data registry in South Korea was performed. Patients were aged 8–88 years (median 37 years), median PNH duration was 6.6 years (1 month–41 years), median PNH granulocyte clone size was 48.8%, and median LDH was $>4.0 \times \text{ULN}$. 76.3% of patients had an LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ and 18% ($n=54$) had a history of TE. **Results:** A significant association was shown between LDH and the occurrence of TE within 12 months of LDH assessment: the odds of experiencing a TE were 4.4 \times greater if LDH was $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ compared with $<1.5 \times \text{ULN}$ ($P=0.020$). Importantly, 82% (18/22) of the patients with LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ who had a TE at 12 months experienced this TE within the first 6 months. Furthermore, 5% (7/150) of patients with LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$ died within 12 months following LDH assessment, reflecting a significantly higher mortality compared with 0% (0/51) of the $<1.5 \times \text{ULN}$ cohort ($P=0.004$). In contrast, there was no correlation between clone size and risk of TE or early mortality. In a multivariate analysis across all interquartile clone size categories, there were no significant differences in the risk of TE and mortality (Chi square $P=0.292$ and $P=0.247$, respectively). **Conclusion:** Elevated LDH is a significant predictor of increased occurrence of TE and mortality within 12 months of LDH assessment. It has been suggested previously that large clone sizes may predict risk of TEs; however, our findings from this large cohort of patients show that neither TE nor death within 12 months was related to clone size. The 15% (22/150) incidence of TE within 12 months in patients with LDH $\geq 1.5 \times \text{ULN}$, with most TEs occurring within the first 6 months of an LDH reading, highlights the medical need and urgency for early therapeutic intervention in PNH patients with an elevated LDH.

0220

Clinical symptoms of hemolysis are predictive of disease burden and mortality in Asian patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Lee JW¹, Jang JH², Kim JS³, Yoon S⁴, Lee J⁵, Kim Y⁶, Jo D⁶, Chung J⁷, Sohn SK⁸

¹ The Catholic University of Korea, Seoul, South Korea

² Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, South Korea

³ Yonsei University College of Medicine, Seoul, South Korea

⁴ Seoul National University, Seoul, South Korea

⁵ University of Ulsan College of Medicine, Seoul, South Korea

⁶ Chonnam National University Hwasun Hospital, Hwasun, South Korea

⁷ Pusan National University Hospital, Pusan, South Korea

⁸ Kyungpook National University Hospital, Daegu, South Korea

Background: Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) is a progressive and life-threatening disease characterized by chronic, complement-mediated hemolysis. The progressive morbidities and mortality associated with PNH, including life-threatening thromboembolism (TE), renal dysfunction, pulmonary hypertension, and abdominal pain, lead to diminished quality of life. Failure to recognize the clinical consequences of chronic hemolysis results in delayed diagnosis and, more importantly, increased disease burden. The frequency and type of clinical symptoms and the relation of these symptoms to TE and early mortality has not been previously examined in Asian patients with PNH. **Aims/Methods:** To describe the clinical manifestations and disease burden of Asian patients with PNH, we retrospectively analyzed the medical records of 301 patients in the South Korean PNH data registry. **Results:** At diagnosis, median PNH granulocyte clone size was 49% and lactate dehydrogenase (LDH) was 4.1-fold above the upper limit of normal. TE was detected in 54 patients (17.9%), 19 of whom had experienced multiple TE events. A univariate analysis showed that TE was a strong predictor of mortality (*odds ratio* [OR] 8.42; 95% confidence interval [CI] 4.15, 17.08; $P < 0.0001$), yet only 45 patients (15.0%) were treated with antithrombotic medications. Impaired renal function was reported in 51 patients (16.9%) and was shown to be a significant risk factor for TE (OR 3.78; 95% CI 1.93, 7.42; $P < 0.001$) and mortality (OR 3.41; 95% CI 1.66, 7.02; $P = 0.001$). Pain was reported by 169 patients (56.1%) and required medical intervention in 66 of these 169 patients (39.1%). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs were administered to 37 of the 66 patients (56.1%) and opioids to 22 of the 66 patients (33.3%). Abdominal pain was reported in 141 of the 169 patients (83.4%) who reported pain or 46.8% of the entire population; treatment for abdominal pain accounted for 74% of the total opioid use. A total of 37 of 54 patients (68.5%) with TE had evidence of abdominal pain, which was a significant risk factor for both TE (OR 2.94; 95% CI 1.57, 5.51; $P < 0.001$) and mortality (OR 2.10; 95% CI 1.087, 4.08; $P = 0.026$). Clinical symptoms of pulmonary hypertension were observed in 130 patients (43.2%). Furthermore, 30 of the 111 patients with dyspnea (27.0%) and 13 of the 38 patients (34.2%) with chest pain had a TE, with both of these events being significant risk factors for TE (OR 2.52; 95% CI 1.38, 4.58; $P = 0.002$ and OR 2.82; 95% CI 1.33, 5.95; $P = 0.009$, respectively). **Conclusions:** These data demonstrate that Asian PNH patients frequently suffer disabling symptoms, including impaired renal function and pulmonary hypertension, during the course of their disease. Moreover, prominent symptoms such as abdominal pain, dyspnea, and chest pain are risk factors for TE, which is a significant risk factor for mortality in Asian patients. Despite medical intervention with supportive care, including the use of corticosteroids in 232 of the total population studied (77.1%), patients continued to demonstrate disabling symptoms, progressive complications, and early mortality.

HEMATOPOESE E CÉLULAS TRONCO

0221

Differential expression of aurka and aurkb genes in bone marrow stromal mesenchymal cells of myelodysplastic syndrome: correlation with g-banding analysis, sky and fish

Oliveira FM¹, Lucena-Araujo AR¹, Rodrigues-Alves AP¹, Silva FP¹, Palma PV², Rego EM¹, Covas DT¹, Falcão RP¹, Fontes AM²

¹ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

It has been demonstrated that genomic abnormalities of cells in the hematopoietic microenvironment could induce myelodysplastic syndrome (MDS) and subsequent transformation to AML. Whether abnormalities associated with stromal mesenchymal cells (MSCs) may contribute to pathogenesis of MDS and leukemias, and subsequently disease progression it is still not totally clear. In the present study we compare the expression profile of *AURKA* and *AURKB* in hematopoietic cells (HC) and MSCs of 48 MDS patients and 16 healthy donors (HD). Secondly, we correlate the cytogenetic findings obtained, with expression profile of *AURKA* and *AURKB*. Mononuclear cells (MNCs) were isolated from BM samples during initial diagnosis. MNCs from MDS and HD were cultured and collected after 3-4 passages for subsequent *G-banding* analyses, SKY, FISH, and RNA isolation. We also applied a panel of "MDS FISH probes"[t(3;3)/inv(3q), 5q-, 7q-, +8 and 20q-] on MSCs in order to search for specific abnormalities of MDS. We stratified the patients according the cytogenetic profile (normal vs. abnormal), for each group (HC and MSCs) and significant differences were observed (*AURKA* [mean value of 2^{-Ct}±SD]: 3,649 ±0,1059 N=18 vs. 4,604 ±0,2743 N=23, p < 0,0001, in HD vs. normal karyotype HC; *AURKA* [mean value of 2^{-Ct}±SD]: 3,649 ±0,1059 N=18 vs. 7,992 ±0,2416 N=32, p < 0,0001, in HD vs. normal karyotype MSCs; *AURKA* [mean value of 2^{-Ct}±SD]: 4,604 ±0,2743 N=23 vs. 14,70 ±0,5661 N=25, p < 0,0001, in normal karyotype HC vs. abnormal karyotype HC; *AURKA* [mean value of 2^{-Ct}±SD]: 7,992 ±0,2416 N=32 vs. 11,72 ±0,4951 N=16, p < 0,0001, in normal karyotype MSCs vs. abnormal karyotype MSCs). The higher expression of *AURKA* in HC and MCS, with altered karyotype *versus* normal karyotype, in the same population was also confirmed by FISH using a commercial probe for *AURKA* gene. We also found significant differences in HD vs. normal karyotype HC and normal karyotype MSCs for *AURKB*, respectively (*AURKB* [mean value of 2^{-Ct}±SD]: 1,587 ±0,05907 N=18 vs. 2,830 ±0,1137 N=23, p < 0,0001 and vs. 3,082 ±0,08036 N=32, p < 0,0001). However, when we compared normal vs. altered karyotype for HC and MSCs we found no difference between the groups. In MSCs with chromosomal abnormalities (CA), the karyotypes observed were different from those of their HC. FISH analysis on MSCs by using a "MDS FISH probes" revealed no MDS abnormalities in MSCs. Clonal abnormalities seen in MSCs by *G-banding* analysis were also confirmed by SKY and this observation confirms that CA showed in MSCs, from MDS patients, are not random. This investigation is the first attempt to correlate the gene expression profile of *AURKA* and *AURKB* in a cytogenetically stratified population of MSCs from MDS patients. In fact, both cells (HC and MSCs) may probably be altered in response to damage-inducing factors, and the presence of genomic abnormalities in MSCs suggests that an unstable bone marrow microenvironment may facilitate the expansion of MDS/leukemic cells. **Financial Support:** FAPESP (Proc. 2007/52462-7 and 2011/01647-2)

0222

Transforming growth factor-β2 promotes snail-mediated epithelial-mesenchymal transition in MCF-10A cells

Pinto MT^{1,2}, Melo FU^{1,3}, Malta TM^{1,2}, Souza LE^{1,3}, Rodrigues ES^{1,2}, Covas DT^{1,3}, Kashima S^{1,2}

¹ Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - FCFRP, Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP

³ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a biologic process that allows a polarized epithelial cell, which normally interacts with basement membrane via its basal surface, to undergo multiple biochemical changes that enable it to assume a mesenchymal cell phenotype. During the EMT, epithelial cells lose cell polarity by downregulating the expression of cytokeratins and cell-cell adhesion molecules such as E-cadherin. The decrease in epithelial gene expression is accompanied by increased expression of mesenchymal genes, including vimentin and fibronectin. Following passage through EMT, epithelial cells also acquire a mesenchymal morphology in adherent culture and increased motility and invasiveness. EMT is critical for appropriate embryogenesis and plays a crucial role in tumorigenesis and cancer progression. EMT can be induced by several cytokines and chemokines, including transforming growth factor-β2 or by the expression of several developmentally important transcription factors, such as Snail, Slug and Zeb. The aim of this work was to induce EMT using an epithelial cell line MCF-10A that are an immortalized, non-transformed epithelial cell derived from human fibrocystic mammary tissue in five distinct conditions: 1) MCF-10A maintained in α-MEM medium containing 15% fetal bovine serum (FBS); 2) MCF-10A maintained in MSC conditioned medium; 3) ectopic expression of Snail in MCF-10A maintained in Mammary Epithelial Cell Growth medium (MEGM); 4) ectopic expression of Snail in MCF-10A maintained in MEGM containing 10 ng/mL de TGF-β2; 5) MCF-10A maintained in MEGM containing 10 ng/mL de TGF-β2. The induction with TGF-β2 was performed every 48 hours and all conditions were maintained in culture for 14 days. After this time, gene expression for epithelial marker (E-cadherin) and for mesenchymal markers (Fibronectin, Vimentin, N-cadherin, α-SMA) and EMT transcription factors such as Snail, Slug, Zeb1, Zeb2 were analyzed. MCF-10A maintained in α-MEM medium containing 15% fetal bovine serum (FBS) (1) and MCF-10A maintained in MSC conditioned medium (2) did not change morphologically and had an increase in E-cadherin gene expression and decrease in mesenchymal markers. Ectopic expression of Snail in MCF-10A maintained in MEGM (3) and MCF-10A maintained in MEGM containing 10 ng/mL de TGF-β2 (5) showed higher gene expression levels of mesenchymal markers and morphologically resemble mesenchymal cells. However, the major difference was observed in ectopic expression of Snail in MCF-10A maintained in MEGM containing 10 ng/mL de TGF-β2 (4). Overexpression of Snail associated to TGF-β2 induced MCF-10A cells to undergo EMT, evidenced by the fibroblast morphology, downregulation of epithelial markers and upregulated the mesenchymal markers. These results indicated that overexpression of Snail associated to TGF-β2 are a potent inductor for EMT. Further understanding the role of Snail in cancer progression may reveal new targets for the prevention or therapy of many cancers.

0223

TGF- β 2 induz a transição epitélio-mesenquimal em células epiteliais mamáriasMelo FU^{1,2}, Souza LE^{1,2}, Pinto MT^{1,3}, Magalhães DA¹, Borges JS¹, Kashima S^{1,3}, Covas DT^{1,2}¹ Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP² Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP³ Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - FCFRP, Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP

A transição epitélio-mesenquimal (EMT) é um processo biológico presente durante o desenvolvimento embrionário e em algumas patologias, como fibrose e câncer, o qual permite que células epiteliais polarizadas sofram múltiplas mudanças bioquímicas levando-as a assumir um fenótipo mesenquimal. Estas mudanças incluem a perda da polaridade e das junções intercelulares, aquisição de comportamento migratório e invasivo, aumento na produção de componentes da matriz extracelular, aumento da síntese de metaloproteases de matriz, redução na expressão de marcadores epiteliais e aumento na expressão de marcadores mesenquimais. A EMT pode ser ativada por vários fatores de crescimento, dentre eles o fator de crescimento transformante β (TGF- β), o qual modula a referida transição fenotípica durante a ontogênese e a progressão tumoral. O papel da isoforma TGF- β 1 na ativação da EMT em tecidos adultos já foi extensivamente explorado, porém, pouco se sabe a respeito da participação da isoforma TGF- β 2. Seu papel é comumente avaliado em apenas alguns eventos do desenvolvimento embrionário. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar se TGF- β 2 seria capaz de ativar a EMT em células epiteliais mamárias MCF-10A. Para tanto, as células foram cultivadas na presença de 10 ng/mL de TGF- β 2 recombinante durante 5 dias. Após este período, as células MCF-10A deixaram de apresentar sua típica morfologia epitelioide e assumiram um formato fibroblástico, característico de células mesenquimais. Em concordância com esta transição morfológica, as células MCF-10A adquiriram uma assinatura transcricional consistente com a EMT. Após a incubação em TGF- β 2, houve redução de 92% ($p=0,04$) da expressão de E-caderina, uma das principais moléculas de adesão epitelial. Além disso, a expressão do fator de transcrição Snail-1 aumentou 17,30 \pm 5,55 vezes ($p=0,04$), e observamos o aumento na expressão de marcadores mesenquimais como fibronectina (6,78 \pm 0,64 vezes; $p=0,0009$), colágeno tipo 1 (156,4 \pm 20,73 vezes; $p=0,0017$) e metaloproteinase tipo 9 (MMP-9) (5,52 \pm 1,34 vezes; $p=0,04$). O aumento na expressão de N-caderina e redução de E-caderina foram confirmados ao nível proteico por microscopia confocal, fenômeno que foi acompanhado pela reorganização dos filamentos de actina e formação de fibras de estresse nas células cultivadas em TGF- β 2. Utilizando um ensaio em que parte da monocamada de células é removida (*scratch assay*), observamos que a transição para o fenótipo mesenquimal resultou no aumento da mobilidade das células MCF-10A. Após 48 h de indução com TGF- β 2, houve um aumento de 2,3 vezes ($p<0,0001$) na velocidade de migração em superfície bidimensional. Em conjunto, nossos dados demonstram que TGF- β 2 ativa o programa da EMT em células epiteliais mamárias levando à aquisição de um fenótipo migratório. Portanto, TGF- β 2 pode exercer papel importante em processos ontogenéticos e patológicos governados pela EMT, notadamente a fibrose e a disseminação metastática, o que faz desta molécula um alvo terapêutico relevante.

0224

Neurogenic differentiation of stem cells from human deciduous tooth pulp for use in regenerative medicineHelfer VE¹, Crestani T¹, Quintiliano K¹, Pranke P^{1,2}, Pilger DA¹¹ Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS² Instituto de Pesquisa com Células-tronco - IPCT, Porto Alegre, RS

Mesenchymal stem cells (MSCs) are cells derived from adult tissue found in various locations, such as bone marrow, adipose tissue, dental pulp tissue and umbilical cord. The MSCs are pluripotent cells and are therefore capable of differentiation into all types of cells such as osteoblasts, chondrocytes, adipocytes and cells in the nervous system. Human deciduous teeth pulp (HDTP) contains an MSC population, called SHEDs (Stem cells from Human Exfoliated Deciduous teeth). SHEDs express neural markers, which perhaps are related to their neural crest origin. The differentiation into neural lineage is one of the features that makes them suitable candidates for therapeutic use in neurodegenerative diseases. Another great advantage of the use of these cells is in relation to its ease of production and the fact that an invasive procedure is not necessary. This work aimed to isolate MSC from HDTP and define a protocol of neurogenic differentiation. The dental pulp was removed and the cells were treated with collagenase at 37°C for 60 min and were prepared for cell culture. After 24 hours, nonadherent cells were removed and adherent cells were cultivated at 90% confluence, when they were subcultivated at a density of 10³cells/cm². The isolated cells were characterized by their adhesion and morphology characteristics and the ability to differentiate into osteogenic, adipogenic and chondrogenic lineages. To achieve neurological differentiation, 5x10³/cm² cells in the 5th passage were cultivated using two different culture mediums: DMEM and neurobasal, both enriched with retinoic acid (RA), and the control for DMEM culture without RA. The medium was exchanged every three days and the cells were observed in 3, 7, 14 and 21 days. Differentiation evaluation was performed by phase contrast microscopy and immunohistochemistry analysis with nestin and b-III tubulin markers. When the DMEM medium was treated with RA, it was observed that from the 7th day there was a lower cellular proliferation. The differentiation process probably began because the cells showed neural phenotypic characteristics, in comparison with the other groups. In the DMEM medium group treated with RA, differentiation was more evident on the 14th day. This result in a decrease in cell proliferation is expected as this process diminishes during their process of differentiation. All the groups were labelled with nestin. The cells were labelled with b-III tubuline only in the group of DMEM with RA. The nestin label in all groups demonstrates the commitment of the SHEDs with neurogenic lineage. The ability of these cells to express neuronal markers and differentiate is one of the events that makes them suitable candidates for use in therapy for neurodegenerative diseases and injuries, although they are still not widely used. The b-III tubuline label in DMEM medium enriched with RA suggests that this is sufficient for the neurogenic differentiation of SHEDs and it is not necessary to use neurobasal for a long period which would generate higher costs for maintenance of cell cultures. This study shows that when SHEDs are exposed to RA, they are capable of differentiating into neural precursors. Therefore, SHEDs can be a possible option for regenerative medicine to treat neurological diseases. **Financial Support:** CNPq, CAPES, FAPERGS, Propesq-UFRGS and Stem Cell Research Institute.

0225

Impacto do armazenamento prolongado de amostras fixadas de sangue de cordão umbilical na quantificação de células-tronco hematopoiéticas por citometria de fluxo

Santos TR¹, Lopes AC¹, Kuhn TI¹, Forte A¹, Sekiya EJ², Alves A²¹ CordCell - Centro de Terapia Celular² Instituto de Ensino e Pesquisa São Lucas, São Paulo, SP

Introdução: As células-tronco hematopoiéticas (CTH) são células raras, que correspondem respectivamente a 0,05% e 0,5% do total de células da medula óssea e do sangue de cordão umbilical (Zago, *et al.*, 2006). Devido à sua elevada capacidade de auto-renovação e diferenciação celular, o transplante de HST é hoje uma modalidade de tratamento consistente para diversas doenças primárias e leucemias (Goldman, 1995). A Citometria de Fluxo, por permitir a análise multiparamétrica de milhares de células em poucos minutos, tem sido amplamente utilizada na caracterização e quantificação das CTH. Para uma correta interpretação e aplicação dos Resultados, é fundamental que os laboratórios trabalhem com técnicas padronizadas e validadas de preparo e armazenamento da amostra, para a quantificação dessas células. **Objetivo:** Analisar o impacto do armazenamento de amostras de sangue de cordão umbilical, fixadas em paraformaldeído, na quantificação de células CD34⁺, durante um período de 0, 24 e 48 horas após a marcação celular. **Métodos:** Foram testadas 30 alíquotas de sangue de cordão umbilical contendo CPDA-1, obtidas na Cordcell – Centro de Terapia Celular, no período de 5 a 28 de março de 2012, sendo que o mesmo material foi avaliado quanto ao sem impacto de armazenamento, sem ser necessário o uso de maior volume desse material. A marcação com CD34 foi realizada no mesmo dia de coleta do sangue do cordão umbilical placentário autólogo (SCUPA) e analisado no dia 0 (golden standart), 24 e 48 horas após a marcação. **Resultados:** A aplicação do teste de análise de variância (ANOVA) resultou em valor de F inferior ao F crítico, tanto para os Resultados percentuais quanto absolutos de células CD34, demonstrando que não existe diferença significativa entre os grupos, testados no período de 0, 24 ou 48 horas após a marcação celular. **Discussão:** A recuperação de células-tronco CD34⁺ a partir do sangue, medula óssea, amostras de aférese ou de cordão umbilical sofre influência de múltiplos fatores pré-analíticos e analíticos. Idealmente, as amostras devem ser processadas imediatamente após a coleta. É crítico que se evite perdas diferenciais nas subpopulações leucocitárias durante o processamento, já que elas podem levar à viés nos Resultados de CD34⁺ (Gratama, *et al.*) O paraformaldeído vem sendo amplamente utilizado nos protocolos de imunofenotipagem de espécimes diagnósticos, por permitir maior estabilidade da amostra após o seu processamento, até a aquisição no citômetro de fluxo (Lal, *et al.*, 1988). **Conclusão:** Os Resultados obtidos demonstram não existir diferenças estatisticamente significativas para a quantificação de células CD34⁺ em amostras de cordão umbilical, após 24 e 48h da marcação celular, desde que seja utilizada a fixação com paraformaldeído.

0226

Estudo comparativo de diferentes scaffolds para crescimento de células *in vitro*

Nunes HC¹, Pasian ACP¹, Silva RA¹, Alvarado LG¹, Murador P¹, Vieira HS¹, Acorci-Valério MJ¹, Deffune E¹, Rossi-Ferreira R²¹ Hemocentro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Botucatu, SP² Faculdade de Ciências – UNESP, Bauru, SP

Introdução: A Engenharia de Tecidos consiste na regeneração de órgãos e tecidos, através do recrutamento de tecidos do paciente, dissociados em células que são cultivadas sobre suportes biológicos ou sintéticos (*scaffolds*), para serem reinseridos no paciente. Esta tecnologia abre novos caminhos para gerar transplantes funcionais e vitais. Investigando o papel da plaqueta, idealizou-se a otimização do uso dos hormônios derivados da mesma sob a forma de gel, como arcabouço 3D para cultura celular baseando-se no fato de que grânulos α , β e densos são armazenadores de quantidades importantes de mais de 15 diferentes fatores de crescimento celular. Estes hormônios estão interfaceados com a adesão, cicatrização e neovascularização de tecidos pela via de regeneração celular. A quitosana possui grande aplicabilidade no campo da Engenharia Biomédica e de biomateriais, devido à sua habilidade em acelerar a cicatrização de lesões cutâneas. Seus metabólitos residuais também são atóxicos tornando a quitosana, um material de grande potencial de aplicação na área médica-farmacêutica. **Objetivos:** Avaliar a contribuição do gel de plaquetas e da membrana de quitosana simples e dopada com hormônios de crescimento como *scaffold* para amplificação de células-tronco. **Métodos:** preparo do gel de plaquetas pela técnica de fragilização da membrana plaquetária, que consiste no congelamento/ descongelamento e choque osmótico e preparo da membrana de quitosana no qual consiste em uma solução 2.5% em massa para dissolução da quitosana em ácido acético seguida por homogeneização em agitação mecânica por 24h. Foi realizada análise da citotoxicidade da membrana de quitosana por citometria de Fluxo utilizando-se o *kit* Caspase e *Kit* Anexina/Iodeto de Propídio. Resultados preliminares: Os ensaios de toxicidade realizados com os kits de Caspase e Anexina/PI evidenciaram que a exposição às membranas não promoveu: apoptose celular induzida pela Via da Caspase-3; necrose e citotoxicidade. Tais informações foram confirmadas pela análise conjunta da contagem, viabilidade celular e dados da citometria de fluxo. **Conclusão:** a utilização do gel de plaquetas e membrana de quitosana dopada com hormônios plaquetários mostrou-se satisfatória para uso como *scaffold* na terapia celular. O presente estudo consiste em ampla investigação sobre o crescimento em cultura de tipos celulares diferentes utilizando concentrados de plaquetas como *scaffolds*, porem ainda encontra-se em fase inicial.

0227

Vegf-loaded matrices produced by electrospinning as an alternative for the culture of mesenchymal stem cells

Rosa AR^{1,2}, Santi B¹, Quintiliano K^{1,3}, Steffens D^{1,2}, Steffen N⁴, Pilger DA¹, Pranke P^{1,2,5}¹ Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS² Programa de Pós Graduação em Ciências das Materias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS³ Programa de Pós Graduação em Neurociência, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS⁴ Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre – SCPA, Porto Alegre, RS⁵ Instituto de Pesquisa com Células-tronco - IPCT, Porto Alegre, RS

Electrospinning (ES) technique permits formation of nanofibre matrices that mimic collagen fibres of the natural extracellular matrix. The association of bioactive molecules as Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in nanofibres allows the controlled release of the incorporated agent. It could contribute to migration, proliferation and cell differentiation, becoming an interesting option for tissue regeneration. The aim of this study was to analyze the impact of VEGF incorporated on a poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) 3D scaffold produced by ES. The *scaffolds* were produced from emulsion as follows: organic phase consisting of PLGA 15% (w/w), sorbitan monooleate (Span-80) 0.2%, hexafluoro-2-propa-

nol (HFIP) and 0.1 % aqueous phase containing PBS, VEGF and BSA. The scaffold controls were produced by diluting PLGA in HFIP at a concentration of 13% (w/w). The followed physicochemical analyses were carried out: 1) morphology by scanning electron microscopy, 2) fibre diameter by Image J software and 3) VEGF release by ELISA. The association between scaffolds and human adipose-derivate stem cells (HADSCs), obtained from liposuction procedures, were evaluated by 1) adhesion tests through DAPI fluorescence after 6 hours of incubation, 2) proliferation by MTT for 1, 4, 7, 14 and 21 days; 3) cell morphology on scaffolds by confocal microscopy and 4) cytotoxicity assay by measurement of the lactate dehydrogenase enzyme (LDH) in supernatant culture of cells for 4, 7, 14 and 21 days. For biological assays three groups were evaluated: (a) PLGA/BSA/VEGF (b) PLGA/BSA (c) PLGA 13% and (d) control group, which are cells directly cultivated on wells. The cells were characterized by immunophenotyping profile and differentiated into adipocytes, chondroblasts and osteoblasts. The nanofibres showed a smooth surface without beads for three groups with an average diameter of 588 ± 123 nm, 520 ± 131 nm and 554 ± 164 nm for PLGA/BSA/VEGF, PLGA/BSA and only PLGA 13%, respectively. VEGF release from scaffolds reached 91.37% after 21 days. The matrices with VEGF showed a higher number of adhered cells when compared to the other groups although with no statistical difference. This possibly suggests an increased bioactivity in the scaffolds containing the growth factor. Morphology of the cells seeded on PLGA/BSA/VEGF scaffolds during 6h did not differ from the morphology of cells seeded on PLGA scaffolds, suggesting that PLGA/BSA/VEGF scaffolds can be used for the HADSCs growth. HADSCs showed actin filaments prolongation on both types of scaffolds after 6 hours of cultivation. It indicates that these cells were satisfactorily adapted to scaffolds. The proliferation assay was similar in both groups of matrices and the control group showed a higher proliferation when compared with both groups of the matrices ($p < 0.05$). This finding was expected because these surfaces have topographies and roughness which allow a better controlled modulation of cellular assays. The measurements of LDH showed that the three tested groups were atoxic for the cells. Therefore, PLGA/BSA/VEGF scaffolds may be a good carrier for the release of VEGF improving HADSCs adhesion and proliferation. Thus, the association between growth factors loaded scaffolds and stem cells are a promising alternative for tissue engineering. **Financial Support:** CNPq, FAPERGS and Stem Cell Research Institute.

0228

Influence of incubation time in the adhesion of mesenchymal stem cells on nanofibre matrices

Santos DS¹, Quintiliano K¹, Crestani T¹, Helfer V¹, Pilger DA¹, Pranke P^{1,2}

¹ Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

² Instituto de Pesquisa com Células-tronco - IPCT, Porto Alegre, RS

Tissue engineering is a science which has been growing substantially over the last few years. The *electrospinning* technique has proved to be efficient in producing nanoscale fibres that act as support for mesenchymal stem cell (MSC) cultures. This association between stem cells (SCs) and nanofibres has shown great promise in the attempt to build artificial tissue and biomaterials for clinical use. Cellular adhesion assay is important to analyse the MSC capacity for attaching themselves to various materials. The aim of this study is to evaluate the influence of incubation time in the adhesion of MSCs on PLGA (poly-lactic-co-glycolic acid) scaffolds and to define which is the best time to perform cellular adhesion assays. Three samples of MSCs from human exfoliated

deciduous teeth (SHEDs) between the 5th and 7th passage were used. In previous studies, SHEDs have already proved to be a good source for clinical use due to their capacity for proliferation and differentiation into the three germinative cell lines. Another advantage is their ease of acquisition without the necessity of invasive methods. The incorporation of bioactive molecules as growth factors can improve the proliferation and differentiation of SCs on the scaffolds as well as the regeneration of the damaged tissue where the biomaterial was implanted. Scaffolds of pure PLGA (group 1) and PLGA containing 0.2% Span 80 and 0.1% albumin (group 2), featuring an emulsion for subsequent incorporation of bioactive molecules, were produced. Three samples of MSCs were used for each group in triplicate. In both groups, the following incubation times were analysed: 1, 2, 3, 6, 8 and 10 hours. After ultraviolet sterilization, 3×10^3 MSCs were seeded onto the scaffolds. The adhesion of MSCs on the scaffolds was analysed by DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindole) fluorescence. The cells were randomly counted with nine photos per well. For both groups, the adhesion after one hour incubation time was significantly lower than the other times, which suggests that this time is not appropriate for cellular adhesion tests. For the group with emulsion the best time was 6 hours of incubation with a decrease of the number of cells when compared with the times of 8 and 10 hours. For the pure PLGA group there was no statistical difference from 3 hours incubation time onwards. This data suggests that there could be an ideal cellular incubation time to obtain higher cellular adhesion, indicating that the cells require a minimum incubation time of 6 hours for greater adherence for assays performed with emulsion and 3 hours for pure PLGA. It can, therefore be concluded that the emulsion appears to facilitate cellular adhesion onto the matrices, which is very interesting from the point of view of scaffold production with incorporated growth factors, demonstrating an advantage for tissue engineering proposals. More samples are being processed to interpret with precision the obtained data. **Financial Support:** CNPq, FAPERGS, Propesq-UFRGS and Stem Cell Research Institute.

0229

Estudo do sangue periférico de macacos Bugios-Ruios (Alouatta Guariba)

Molan D¹, Resende L², Hokama N², Donato P², Tranquilim M³, Rahal S³, Teixeira C³

¹ Faculdade De Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – FMB-UNESP, Botucatu, SP

² Hematologia, Faculdade De Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – FMB-UNESP, Botucatu, SP

³ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Botucatu, SP

Introdução: Há poucos estudos de interesse médico em macacos bugios-ruivos (*Alouatta guariba*), espécie brasileira ameaçada de extinção. Não encontramos publicações sobre parâmetros hematológicos normativos para o sangue periférico (SP) da espécie, sendo essa a proposta deste estudo. **Objetivo:** Estudar parâmetros hematológicos quantitativos e qualitativos do SP de macacos bugios-ruivos adultos, saudáveis, de ambos os sexos, onívoros, mantidos em cativeiro no Centro de Medicina e Pesquisa de Animais Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP. **Métodos:** Estudo prospectivo dos parâmetros hematológicos quantitativos do SP, em contador automático de células, e análise qualitativa das linhagens hematológicas, em esfregaços sanguíneos corados, sob microscopia óptica. **Resultados:** Coletaram-se hemogramas de 8 animais (5 machos e 3 fêmeas), analisados em contador automático de células (ABX Diagnostics – Pentra DX 120) no Hemocentro da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP. As médias observadas foram: Ht=36,4%, Hb=12,2g/dL,

GV=4.277.500/mm³, VCM=85,1µm³, HCM=28,6pG, CHCM=33,5g/dL, Reticulócitos=0,71%, RDW=13,9%, Plaquetas=297.500/mm³, GB=8.687/mm³, Neutrófilos=5.515/mm³, Eosinófilos=61/mm³, Basófilos=96/mm³, Linfócitos=2.575/mm³, Monócitos=440/mm³. A observação dos esfregaços sanguíneos revelou: ausência de alterações relevantes em eritrócitos; plaquetas regenerativas em 8 animais; trombocitose em 7; desvio à esquerda (DE) até bastões em 1 (computados junto com neutrófilos pelo contador automático); neutrófilos vacuolizados em 1; neutrófilos com granulações tóxicas em 1; neutrófilos vacuolizados e com granulações tóxicas em 1; neutrófilos e monócitos vacuolizados em 1; monócitos vacuolizados em 2; linfócitos atípicos (imunoblastos) em 3. Além disso, foram observadas pequenas e múltiplas projeções cromáticas nos núcleos dos neutrófilos de 6 animais. Todos os macacos apresentaram parasitológicos de fezes negativos no momento da coleta dos hemogramas. **Discussão:** Os parâmetros da série eritróide foram bastante homogêneos nos animais, com valores de Ht e Hb acima da média em apenas 3 deles. Comparando-se com valores de referência para humanos, 7 macacos estariam anêmicos, embora todos se mostrassem saudáveis, sem verminoses e alimentando-se com ração balanceada para primatas, ovos, frutas e vegetais *ad libitum*. Todos os macacos ficaram estressados durante a captura nas jaulas, porém, o macho dominante foi o que demonstrou maior leucocitose, sendo o único a apresentar DE, o que poderia sugerir nível basal aumentado de catecolaminas e corticosteróides devido ao estado de alerta constante conferido pela dominância. A presença de granulações tóxicas, vacuolizações nos fagócitos e linfócitos ativados sugere ocorrência de estimulação antigênica e inflamação subclínica, mesmo em animais saudáveis. Presença de plaquetas regenerativas e/ou trombocitose poderiam sugerir algum sangramento oculto não diagnosticado, de ocorrência pouco provável em todo o grupo ou, mais provavelmente, se justificariam no contexto inflamatório subclínico já mencionado. Muito interessante foi a observação de pequenas e múltiplas projeções cromáticas nos núcleos dos neutrófilos de 6 animais, o que não costuma ser observado em humanos. Tal achado só não foi constatado nos 2 macacos mais jovens do grupo e aprofundamento do estudo é necessário para elucidar o seu significado.

0230

Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from the liver, pancreas, lung, spleen, aorta and adipose tissue of mice

Oliveira R¹, Chagastelles P^{1,2}, Pranke P^{1,2,3}

¹ Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

² Programa de Pós Graduação em Ciências das Matérias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

³ Instituto de Pesquisa com Células-tronco - IPCT, Porto Alegre, RS

Mesenchymal stem cells (MSCs) have been the focus of several scientific studies, due to their availability and high therapeutic potential; however the biological characteristics presented by them are not fully understood. An important role of these cells in the regulation and modulation of the immune response was recently discovered. MSCs are able to interact with different cells of the immune system. The mechanisms by which MSCs play this role are related to a number of factors secreted by them in a mechanism that is also known as the paracrine effect. The aim of this study was to isolate MSCs from the kidney, pancreas, lung, spleen, aorta and adipose tissue of C57Bl/6 mice as well as to evaluate the expression of their surface markers and the ability of adipogenic and osteogenic differentiation *in vitro*. In addition, this study aimed to analyse the expression of genes involved in immune response to help understand the mechanisms used by these cells in tissue

regeneration. Until the time of this study, the isolated cells had presented a typical MSC-like morphology after the isolation which remained during the subsequent passages. The cell surface markers analysed by flow cytometry at the 4th-5th passages showed that the cells did not express markers for macrophages (CD11b), endothelial cells (CD31) and leukocytes (CD45) but expressed to some degree CD44, CD90.2 and Sca-1. The CD90.2 expression was between 70.1 and 98.3% in most analysed tissues except the kidney, which presented only 5.6% of positive cells. Sca-1 marker was positive in 77.5% of the pancreas cells but only 4.8% in the lung. All the analysed tissue presented a CD44 expression between 20.6 and 33.1%. All cultures differentiated efficiently into osteoblasts after 3 to 4 weeks in osteogenic differentiation medium. Cultures submitted to adipogenic differentiation showed variations in differentiation efficiency. Adipose tissue, lung and kidney-derived cultures differentiated more easily, compared to aorta, pancreas and spleen. Furthermore, preliminary results showed expression of receptors involved in the recognition of pathogens (*Toll-like receptor 3 and 4*) in the two cultures which were analysed. Additionally, the standardization of quantitative PCR reaction for beta-actin, inducible nitric oxide synthase, matrix metalloproteinase-2, interleukin-6 and CD274 genes was performed. The measurement of the expression for these genes in isolated cells from different organs will be analysed in further experiments. Thereby, it was able to isolate MSCs from different tissues and organs from mice. Additional analyses of these cells as well as the qPCR standardized in this study might help to understand the mechanism of action by which MSCs modulate the immune response. **Financial Support:** CNPq, CAPES, FAPERGS, SEDETEC/UFRGS and Stem Cell Research Institute.

0231

Avaliação da recuperação e viabilidade celulares do sangue de cordão umbilical e placentário em relação ao método e tempo de processamento

Schmalfluss T, Salton GD, Furlan JM, Araújo AB, Angeli MH, Röhsig LM

Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário, Serviço de Hemoterapia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

O processamento do sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP) tem por finalidade reduzir o volume da unidade coletada obtendo-se um concentrado de células nucleadas totais (CNT), antes de sua criopreservação e armazenamento. A redução do volume do SCUP pode ser realizada de forma manual ou automatizada e permite que a quantidade de crioprotetores e de hemácias sejam diminuídos, reduzindo os efeitos adversos dos crioprotetores no paciente e o risco de incompatibilidade ABO/Rh no momento do transplante. A perda do número de CNT do SCUP ocorre tanto no procedimento manual, quanto no automatizado, e deve ser diminuída, a fim de alcançar celularidade maior ou igual a 5x10⁸, mínimo determinado pela legislação (RDC 56/10). O objetivo desse trabalho foi avaliar recuperação e viabilidade celulares obtidas pelos Métodos de processamento manual e automatizado 24 ou 48 horas após a coleta de SCUP no Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre julho/2011 e junho/2012. Foi realizado estudo retrospectivo, no *software* BrasilCord, de 301 unidades de SCUP com coleta dos seguintes dados: percentual de recuperação de CNT após o processamento (recuperação), viabilidade celular, tempo entre a coleta e o processamento (24 e 48h) e método de processamento. Para o processamento manual (PM) foi utilizado o *kit* de transferência e congelamento de SCUP da Thermogenesis e o processamento automatizado (PA) foi realizado no equipamento SEPAX S-100 com *kit* CS-530 da Biosafe. As contagens de CNT foram realizadas em contador hematológico Mindray BC-

2800 e a viabilidade celular pelo método de exclusão por azul de Trypan. As amostras foram divididas em 4 grupos, considerando tempo e método de processamento: (G1) PM/24h, (G2) PA/24h, (G3) PM/48h, (G4) PA/48h para analisar os parâmetros recuperação e viabilidade. Foram utilizados Correlação de Spearman e o teste Kruskal-Wallis para verificar a correlação e a comparação de medianas, respectivamente. Os Resultados são apresentados como mediana, seguida por intervalo interquartilico e número amostral. Os valores de recuperação (%) foram: G1- 76,7 (70,2-81,4; 143); G2- 84,5 (79,9-89,0; 137); G3- 68,2 (57,4-76,6; 7) e G4- 82,6 (76,1-86,5; 14). Observou-se diferença significativa nos valores de recuperação celular ($p < 0,001$) sendo que a análise *post hoc* detectou diferenças entre os grupos G3 e G4 ($p=0,046$), G1 e G2 ($p < 0,001$) e, G2 e G3 ($p < 0,001$). Os valores de viabilidade (%) apresentaram diferenças significativas ($p=0,017$) e foram: G1- 99 (98-100; 141); G2- 99 (99-100; 137); G3- 97,5 (95-98,5; 6); G4- 99 (97,3-99,3; 14); entretanto, o teste estatístico não apresentou poder para identificar entre que grupos ocorreram. Os Resultados deste trabalho mostram que, no período avaliado, o método PA foi mais eficiente do que o PM em relação à recuperação celular. A combinação entre o método PA e o tempo de 24h apresentou a maior eficiência de recuperação, enquanto o PM em 48h mostrou a eficiência mais baixa. Assim, tanto o método de processamento, quanto o tempo entre a coleta e o processamento podem influenciar a recuperação e a viabilidade celulares. Como a quantidade de CNT e a viabilidade celular são indicadores de qualidade da unidade final de SCUP, a escolha do método e do tempo de processamento pode auxiliar na obtenção de unidades com maior qualidade para transplante.

0232

Comparative study of two techniques for obtaining mesenchymal stem cells from rabbit adipose tissue: mechanical dissociation versus enzymatic digestion

Martins JR, Evaristo TC, Inacio JC, Cotrim OS, Moroz A, Alves FC, Ferreira RR, Deffune E

Hemocentro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Botucatu, SP

Background: Mesenchymal stem cells (MSCs) are adult multipotent cells adherent to plastic and with fibroblastoid morphology. These cells can be obtained from different sources, like bone marrow, peripheral blood, liver, umbilical cord blood, dental pulp and adipose tissue. Many studies have been conducted with MSCs derived from adipose tissue because of the abundant number of cells that can be obtained from this tissue, easy access and little discomfort to the patient. Cells obtained from adipose tissue have a high potential use in cell therapy because its self-renewal capacity and ability to differentiate into various cell types. Loss of mesenchymal tissues as fat, cartilage, muscle and bone due to trauma or blood vessels loss represents a clinical problem that can be recovered with MSCs therapy. The aim of this study was to compare two techniques for obtaining MSCs from rabbit adipose tissue: mechanical dissociation (MD) and enzymatic digestion (ED). **Methods:** Samples of adipose tissue were taken from the dorsal region of ten rabbits. Each sample was divided into two equal fragments to compare techniques. The enzymatic digestion (ED) was performed using the enzyme collagenase type I and to make the mechanical dissociation (MD) we used cell scraper. Microscopic observations were made on days 7, 9, 11 and 13 after plating cells and we performed a comparison between samples according to the percentage of cell confluence. **Results:** On the seventh day of culture, percentage of cell confluence obtained using DE method was superior to DM in 40% of the samples, DM was better than DE in 10%

of the samples and both techniques were equivalent in 50% of the samples. After 9 days of culture, percentage of cell confluence obtained using DE method was better than DM in 50% of the samples, DM was better than DE in 20% of the samples and both techniques were equivalent in 30% of the samples. After 11 days of culture, percentage of cell confluence obtained using DE method was better than DM in 40% of the samples, DM was better than DE in 40% of the samples and both techniques were equivalent in 20% of the samples. On the thirteenth day of culture, percentage of cell confluence obtained using DE method was better than DM in 30% of the samples, DM was better than DE in 40% of the samples and both techniques were equivalent in 30% of the samples. **Conclusion:** The results showed that after 15 days of culture, the number of cells obtained by DM method increased quickly, indicating that this technique is better after approximately 15 days of culture. Moreover, cells confluence obtained by DE method is better during the first days of culture.

0233

Relação entre variáveis maternas e do recém-nascido e parâmetros de qualidade do sangue de cordão umbilical e placentário

Salton GD, Araújo AB, Furlan JM, Angeli MH, Schmalfluss T, Röhsig LM

Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário, Serviço de Hemoterapia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, RS

O sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP) é uma fonte alternativa e eficaz para o transplante de células progenitoras hematopoéticas (CPH). A quantidade de células nucleadas totais (CNT) e células CD34+ em uma unidade de SCUP são de fundamental importância para a reconstituição hematopoética, assim como na sobrevida pós-transplante. Uma vez que diversos fatores podem influenciar a quantidade de CNT e de células CD34+, o objetivo deste trabalho foi correlacionar variáveis maternas e do recém-nascido (RN) com parâmetros hematológicos e com o volume de SCUP coletados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre de julho/2011 a junho/2012. Foi realizado um estudo retrospectivo no *software* BrasilCord com levantamento dos dados: idades materna e gestacional, grupo sanguíneo ABO materno e do RN, volume inicial do SCUP, CNT/mL inicial, celularidade final, células CD34+/mL e número de eritroblastos de 400 unidades de SCUP. A variável idade materna foi dividida em 5 grupos: (1) 18-24 anos, (2) 25-29 anos, (3) 30-34 anos, (4) 35-39 anos e (5) acima de 40 anos. Foram utilizados Correlação de Spearman e o teste Kruskal-Wallis para verificar a correlação e a comparação de medianas, respectivamente. Dados com distribuição normal foram apresentados como média \pm desvio padrão e dados sem distribuição normal foram descritos por mediana seguida por intervalo interquartilico (IQ). O volume das unidades de SCUP apresentou média de $106,5 \pm 31,2$ mL. Os valores de mediana e IQ para as demais variáveis foram: idade materna 26 (22-31) anos; idade gestacional 39 (38-40) semanas; CNT/mL inicial $10,9 (8,7-13,5) \times 10^6$; celularidade final $10,2 (8-14) \times 10^8$; células CD34+/mL $106,8 (69,3-175,4) \times 10^3$ e número de eritroblastos 8 (5-13). Observou-se forte correlação positiva entre as variáveis CNT/mL inicial e celularidade final ($r_s=0,717$) e entre volume e celularidade final ($r_s=0,658$). Correlação positiva moderada foi observada entre CNT/mL inicial e volume ($r_s=0,432$), CNT/mL inicial e células CD34+/mL ($r_s=0,434$), celularidade final e células CD34+ ($r_s=0,517$) e volume e células CD34+/mL ($r_s=0,328$). Foi observada correlação positiva fraca entre idade gestacional e os parâmetros volume ($r_s=0,212$), CNT/mL inicial ($r_s=0,230$) e celularidade final ($r_s=0,218$), bem como entre o número de eritroblastos e CNT/mL inicial ($r_s=0,210$) e células CD34+/mL ($r_s=0,186$). Para todas

as análises, foi obtido $p \leq 0,001$. A idade materna não apresentou correlação com qualquer parâmetro. Todas as variáveis testadas não apresentaram diferença significativa entre os grupos sanguíneos maternos e do RN. Os Resultados deste trabalho demonstram que quanto maior CNT/mL inicial e o volume de uma unidade de SCUP, maior será a celularidade final, e que o número de CPH CD34+ é proporcional tanto ao volume e à quantidade de CNT/mL inicial do SCUP, quanto à celularidade final. O número de eritroblastos também está relacionado com CNT/mL inicial e ao número de células CD34+. A idade e o grupo sanguíneo maternos e o grupo sanguíneo do RN parecem não influenciar os parâmetros hematológicos e o volume coletado do SCUP, no entanto quanto maior a idade gestacional, maiores serão os valores de volume, CNT/mL inicial e celularidade final. As análises apresentadas nesse trabalho podem auxiliar na seleção de SCUP a fim de melhorar a qualidade final do material criopreservado para o transplante.

0234

Pancitopenia de origem infecciosa: relato de caso

Cavalcanti LH, Moreira PA, Lima FO, Lira AR, Monteiro PJ, Dantas SG, Neves FF, Matias RL, Paiva FA, Botelho LF

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: Pancitopenia é uma redução em todas as três séries de células hematológicas presentes no sangue periférico: eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Existem inúmeras causas de pancitopenia, sendo muitas vezes difícil sua diferenciação etiológica. Dentre elas, algumas doenças infecciosas também podem gerar esse quadro, como a Leishmaniose Visceral e Histoplasmose disseminada. Estas últimas devem sempre ser lembradas, principalmente em regiões endêmicas para tais infecções e em pacientes imunodeprimidos, como os infectados pelo HIV. Ambas possuem manifestações clínico-laboratoriais e alterações hematológicas bastante semelhantes. Além disso, a morfologia dos patógenos à microscopia também não revela grandes diferenças, exceto pela presença/ausência de cinetoplasto. Com isso, erro diagnóstico pode ocorrer e o prognóstico se torna ruim quando a terapia errada é fornecida. O presente trabalho visa relatar um caso clínico de pancitopenia de origem infecciosa, dando ênfase ao diagnóstico diferencial entre leishmaniose visceral e histoplasmose disseminada. **Relato:** Paciente masculino, 37 anos, natural e procedente de João Pessoa, com história prévia de infecção pelo HIV há 3 anos. Decorridos 2 anos e meio sem acompanhamento, encontrava-se em abandono da TARV, com quadro de febre, disúria e hepatoesplenomegalia. Neste momento, os exames laboratoriais revelavam bicitopenia (anemia + leucopenia) e inversão da relação albumina/globulina. Realizou mielograma, que revelou presença de formas arredondadas com núcleo excêntrico, sugestivas de leishmania. Com isso, iniciou tratamento com Anfotericina B lipossomal, evoluindo com melhora clínica e dos índices hematimétricos. Três meses depois, apresentou nova piora, com quadro de febre intermitente há 20 dias, associada a diarreia, perda de peso, tosse produtiva, palidez e hepatoesplenomegalia. Estava novamente em abandono da TARV. Evoluiu com pancitopenia importante, necessitando de suporte hemoterápico na ocasião. Foi realizada sorologia para leishmaniose visceral pelo método de Imunofluorescência indireta, que se revelou negativa. Então, realizou-se novo mielograma, que mostrou medula hipocelular, porém com macrófagos apresentando estruturas arredondadas sem presença de cinetoplasto, sugestivas de Histoplasmose. Iniciou-se novamente Anfotericina B, porém o quadro já se encontrava bastante avançado e o paciente evoluiu para óbito 3 dias após a introdução do antifúngico. **Discussão:** Existem diversas causas de pancitopenia ou mesmo de bicitopenia, e dificilmente um médico não irá se

deparar com um paciente pancitopênico em algum momento de sua vida profissional. A pancitopenia de origem infecciosa não é tão comum, mas deve sempre ser lembrada em regiões endêmicas para certas infecções e em doentes imunodeprimidos. Dois quadros infecciosos que se confundem bastante são a Leishmaniose Visceral e a Histoplasmose disseminada, ambos podendo acometer este tipo de paciente. Assim, o médico deve estar atento às diferenças sutis existentes, para realizar o diagnóstico diferencial corretamente e instituir a terapêutica adequada, melhorando o prognóstico do paciente.

0235

Indução da diferenciação de células-tronco embrionárias humanas em células endoteliais

Moreira LF^{1,2}, Costa EB^{1,2}, Orellana MD^{1,2}, Magalhães DA², Castro VP², Carbolante EM^{2,3}, Covas DT^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Introdução: O crescente interesse em gerar células endoteliais (CEs) para aplicações terapêuticas tem aumentado a utilização das células-tronco embrionárias humanas (CTEhs) como fonte potencial de progenitores endoteliais. Embora diversos trabalhos tenham demonstrado a geração de CEs, a partir de diferentes linhagens de CTEhs, o processo de diferenciação requer soro ou a presença de células estromais. Entretanto, para fins terapêuticos, os sistemas de cultivo necessitam estar livres de componente animal. **Objetivo:** Gerar células endoteliais a partir de células-tronco embrionárias humanas livres de componentes xenogênicos. **Métodos:** A linhagem H1 de CTEhs (WiCell) foi cultivada em meio de diferenciação Stem Pro 34 livre de soro e na presença de citocinas VEGF165, BMP4, *Fit3* e TPO, para a formação de corpos embrioides (EBs). As células aderentes, derivadas dos EBs, foram cultivadas em meio EGM2 até atingirem confluência. Posteriormente, EBs e células aderentes foram avaliadas por citometria de fluxo quanto à expressão dos marcadores CD90, CD31, CD34, CD105, CD144, KDR, CD133 e SOX2. Adicionalmente, a incorporação da lipoproteína de baixa densidade acetilada (ac-LDL) e expressão do fator de von Willebrand (vWF) foram avaliadas por imunofluorescência nas células aderentes. **Resultados:** Os EBs demonstraram alta expressão dos marcadores CD90 (84%) e SOX2 (53%) e menor expressão de CD105 (13%), CD31 (10%), CD34 (8%), KDR (2%), CD133 (2%) e CD144 (0,7%). Após cultivo em meio EGM2, as células aderentes apresentaram morfologia fibroblastóide e diminuição na expressão do marcador de pluripotência SOX2 (7%). A expressão dos demais marcadores foi CD105 (16%), CD133 (20%), KDR (8%), CD90 (6%), CD34 (3%), CD31 (4%) e CD144 (4%). A funcionalidade *in vitro* dessas células foi evidenciada pela formação de uma rede de vasos rudimentares em matrigel. Outro potencial endotelial das células aderentes foi demonstrado pela incorporação da lipoproteína da AC-LDL e expressão do fator de von Willebrand (vWF), através da técnica de imunofluorescência. **Conclusão:** Os Resultados demonstraram a geração de células com características de CEs funcionais *in vitro*, em sistema livre de soro e na ausência de células estromais. As células endoteliais produzidas em cultura poderão, futuramente, ser utilizadas na engenharia de novos vasos sanguíneos, bem como na indução da angiogênese para regeneração de tecidos isquêmicos.

0236

Identificação de proteínas ligadas diretamente ao processo de diferenciação hematopoética a partir de células pluripotentes

Castro VP¹, Moreira LF¹, Carbolante EM^{1,2}, Costa EB¹, Magalhães DA¹, Orellana MD¹, Covas DT¹

¹ Centro de Terapia Celular - CTC, Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Células-tronco pluripotentes, embrionárias (CTE) e pluripotentes induzidas (iPS) são caracterizadas por sua ilimitada capacidade de auto-renovação e diferenciação em todas as células especializadas do indivíduo adulto. A alta potencialidade de diferenciação destas células em linhagens específicas por Métodos de indução *in vitro*, faz delas grandes promessas para o desenvolvimento de novas tecnologias aplicáveis à medicina regenerativa e terapia celular. Células pluripotentes são capazes de se diferenciarem em células precursoras hematopoéticas, no entanto, esta metodologia ainda se mostra pouco eficiente. Para que este obstáculo seja transposto é necessário o entendimento da via de diferenciação e a identificação de genes envolvidos neste processo. O sangue artificial, produzido por células pluripotentes ou mesmo pela diferenciação direta, será de extrema importância para o uso clínico e poderá ser produzido de acordo com sua demanda. Portanto, este estudo visa a criação de um banco de dados proteo-genômico de proteínas envolvidas no processo de diferenciação hematopoética. Para isso, a linhagem H1 de CTE foi co-cultivada com células OP9 para a indução da diferenciação e após nove dias do co-cultivo as colônias de CTE apresentaram morfologia de células diferenciadas. A análise dessas células por citometria de fluxo demonstrou aumento dos marcadores envolvidos na diferenciação hematopoética, tais como: CD34 (25,9%), CD43 (40,1%), CD45 (4,6%) e CD31 (18,4%), evidenciando a presença de células precursoras hematopoéticas. Extração de RNA e proteínas foi realizada para obter um banco de dados sobre a via de diferenciação hematopoética *in vitro*. Com isto pretendemos identificar alvos essenciais dessa diferenciação, melhorar o rendimento da diferenciação *in vitro*, aumentando a expressão de genes específicos e no futuro selecionar genes para implementar a tecnologia de diferenciação *in vitro* em nosso centro de pesquisa.

0237

Modelo alternativo de xenotransplante para estudo das doenças mielóides não leucemias agudas

Pacheco LZ, Rezende DC, Silva S, Malafaia EC, Kimura E, Segreto HR, Yamamoto M, Chauffaille ML, Kerbauy DM

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Introdução: O xenotransplante de células humanas em camundongos imunodeficientes é útil para o estudo funcional das células tronco-hematopoéticas normais e leucêmicas. Entretanto, faz-se necessário o desenvolvimento de um modelo *in vivo* suficientemente robusto para que maior variedade de doenças mielóides possa ter sua biologia estudada e que propicie a investigação de potenciais alvos terapêuticos. **Objetivos:** Estabelecer o modelo de xenotransplante que permita o enxertamento de células precursoras de neoplasias mielóides não agudas. **Métodos:** Para o modelo de xenotransplante foram utilizados camundongos das linhagens NOD/SCID (n=9) e NODSCID gama null (NSG; n=51) com 6-8 semanas de idade. Os camundongos foram submetidos à irradiação com

dose sub-letal de 275-325CGy. Após 4-24h da irradiação, células da linhagem celular P39 e células mononucleares de 12 pacientes com Síndrome Mielodisplásica (n=7) e Leucemia Mielóide Crônica (n=4) foram transplantadas através da articulação do joelho do camundongo. A avaliação do enxerto humano foi realizada por citometria de fluxo, utilizando os anticorpos monoclonais CD45-FITC humano, CD45 PerCP humano, CD34 FITC humano e CD45-PE anti-mouse. **Resultados:** Dos 60 camundongos transplantados 23 sobreviveram e foram avaliados quanto à presença de enxerto humano. A alta mortalidade ocorreu precocemente após o transplante, entre o D3 e D8, e foi atribuída à irradiação. Foi obtido enxerto e formação de tumor local nos experimentos nos quais foram utilizadas células de linhagem leucêmica P39 em camundongos NODSCID e NSG. O enxerto foi observado no sangue periférico (SP), medula óssea (MO) e baço de todos os camundongos avaliados. Em relação aos camundongos transplantados com células primárias de pacientes, o enxerto foi demonstrado em camundongo transplantado com células mononucleares de SP de paciente com LMC fase crônica. O enxerto foi observado na 11ª semana no SP, MO e baço. A análise foi realizada na população de células CD45+ humano. O número de células humanas enxertadas foi maior na MO (7,29% CD34+CD45+). No baço o enxerto foi de 6,55% de células CD34+CD45+ e no SP: 0,67% de células CD34+CD45+. Nos demais experimentos não foi evidenciado enxerto de células humanas em SP, MO ou baço após a 5ª, 11ª e 20ª semanas. O enxerto de células humanas foi possível em camundongo NSG. A identificação de células humanas CD34+CD45+ ocorreu em número significativo a partir de LMC, uma doença cujos experimentos prévios não demonstravam Resultados promissores. Assim, esse novo modelo passa a ser usado no contexto de estudos em doenças mielóides não agudas.

0238

Identification of target transcripts and molecular processes modulated by miR-106a and miR-302b using whole-genome transcriptome analysis

Sastre D^{1,2}, Fráguas MS^{2,3}, Haddad R², Araújo AG³, Covas DT^{2,3}, Santos EJ¹, Zago MA^{2,3}, Panepucci RA^{2,3}

¹ Universidade Federal do Pará – UFPA, Belém, PA

² Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Células-Tronco e Terapia Celular, Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

The nuclear reprogramming of somatic cells into a pluripotent state (induced Pluripotent Stem Cells-iPSC) opened a new field of science, creating the possibility of using autologous cells for therapy in degenerative diseases. The classic methods for obtention of iPSCs consisted in the delivery of transcription factors using lentiviral vectors, which become a concern for clinical applications. In the attempt of eliminating the hazard of this type of reprogramming, it has been recently described the generation of iPSC using only small non-coding RNAs called microRNAs (miRNAs), such as the recent report using members of the miR-302-367 cluster. MiRNAs modulate the expression profile of cells by targeting hundreds of mRNAs simultaneously. Indeed, miR-106a-363 cluster was found to enhance iPSC generation. These studies indicate that miR-302b and miR-106a modulates key processes, such as self renewal and cell cycle control. Despite their importance, the transcripts and pathways modulated by these miRNAs are only now starting to be uncovered. Therefore, the aim of this work was to identify transcripts targeted by miR-106a and miR-302b in both terminally differentiated and pluripotent cell lines. For this, we independently transfected synthetic pre-miR, inhibitory anti-miR and corresponding unspecific control molecules into human BJ fibroblasts and into pluripotent Ntera2

cells. Whole-genome transcriptomes were obtained by oligonucleotide microarrays after 72 hours. In order to identify highly confident targets, transcripts downregulated by pre-miR and upregulated by the corresponding anti-miR, in both cell lines, were compared to the set of predicted targets showing evolutionary conserved miR binding sites (microrna.org). Pathways and biological processes modulated by the miRs were identified using a Functional Annotation Tool (DAVID). Among pathways with a statistically significant enriched number of transcripts, identified as highly confident miR-302b targets, we found: Apoptosis, p53 and WNT signaling (including: MDM4, CDKN1A, CYCS, ATM; IL1R1, LRP6 and ROCK2). Similarly, for miR-106a, the following pathways were identified: Regulation of Actin Cytoskeleton, Adherens Junction, Focal Adhesion, Axon Guidance and MAPK Signaling (including: FN1, FGFR2, LIMK2, PAK2, ROCK1, ROCK1P1, ITGB1, CTNNA1, EP300, TGFB2, ACVR1B, SMAD2, TAOK1, DUSP3, MAP3K2, PRKCA and PPP3CA). Interestingly, analysis based on shared predicted-targets downregulated by miR-302b and miR-106a, in both cell lines, revealed enrichment of central pathway components of TGFbeta (TGFB2, SMAD2, SMAD3 and ROCK2) and MAPK signaling (MAPK1, DUSP3, MAP3K2, PAK2). Additionally, although not shared predicted-targets, IL1R1, LTBP2, ROCK1 and GSK3B were similarly modulated. Finally, several transcripts related to pluripotency and reprogramming (including *Nanog*, *LIN28B* and *Nodal*) were up-regulated by both miRs. Our results demonstrate that several components of pathways previously implicated in opposing pluripotency, self-renewal and somatic cell reprogramming are highly likely directly targeted to degradation by miR-106a and miR-302b. These findings contribute to our understanding on how miR-106a and miR-302b control many cellular processes and pathways that can be used in order to improve the efficiency and safety of the classic iPSC generation methods.

0239

Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells activate HGF/MET signaling pathway in melanoma cells and enhance metastasis

Souza LE^{1,2}, Fontes AM^{1,2,3}, Melo FU^{1,2}, Rodrigues DC⁴, Silva RB^{2,3}, Covas DT^{1,2}

¹ Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

⁴ Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells (MSCs) hold a promise for future cell-based therapies due secretion of biomolecules that carry pro-regenerative properties. Despite this excitement, it is imperative to clarify the mechanistic basis of MSCs' benefits and also of their side effects. MSCs exhibit a marked tropism to tumor sites where they might interact with tumor cells. We hypothesized that the secretory functions of MSCs imply their ability in creating a niche for tumor cells which may facilitate overcoming microenvironmental constraints *in vivo*. Thus, utilizing an orthotopic B16 melanoma model, we studied the role of MSCs on tumor metastasis, the major cause of death in patients with cancer. When subcutaneously injected with B16 melanoma cells, MSCs occupy the perivascular niche of primary tumors and enhanced more than 2-fold the incidence of lung micrometastases. To clarify the mechanisms involved in this metastasis promotion, we evaluated whether MSCs' secretome activate the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in B16 cells, thereby leading to the conversion of static epithelial-like cells into invasive mesenchymal cancer cells. We found that MSCs alone are

able to induce all the cellular changes that lead to activation of EMT in B16 cells. Upon culture in MSCs' conditioned medium (MSC-CM), B16 cells disrupted their intercellular adhesions and the morphology changed to a fibroblastic shape with cells loosely dispersed in culture. These morphological changes were accompanied by the reorganization of actin filaments, which organized into bundles and supported the formation of protrusions, typical features of mesenchymal cells. MSC-CM also induced the acquisition of an EMT transcriptional signature in B16 cells. After culture in MSC-CM, B16 cells up-regulated the mesenchymal markers vimentin, fibronectin, fibroblast-specific protein 1 and N-cadherin and repressed E-cadherin, a hallmark of the epithelial phenotype. When cultured in MSC-CM, B16 cells also up-regulated the expression of ZEB2, a transcription factor known to orchestrate the transcriptional changes that drive EMT activation. In accordance to the pro-metastatic effect of MSCs, MSC-CM also reduced the avidity of B16 cells to fibronectin and increased its motility and invasiveness in 3D matrices. We next aimed to identify the factors involved in the MSCs-mediated activation of EMT and acquisition of metastatic traits in B16 cells. Inhibition of Met receptor, which is critical for melanocyte migration during ontogenesis, completely abrogated the effects of MSCs' secretome, suppressing the activation of EMT and the acquisition of all metastatic properties in B16 cells. Our evidences indicate that, after integrating the tumor microenvironment, MSCs can produce HGF that will in turn sensitize Met-expressing tumor cells to undergo metastatic dissemination. Such pro-metastatic potential should be considered to safely develop MSCs as a therapeutic tool. This is especially important considering that MSCs have been explored as a cellular vehicle for delivery of drugs and nanoparticles into tumors. In addition, since bone marrow-derived MSCs are actively recruited to tumor sites, our findings highlight the bone marrow as a source of non-hematopoietic progenitor cells that might modulate metastasis, the major cause of death in patients with cancer.

0240

Aspirado ou biópsia de medula óssea ao diagnóstico de mieloma múltiplo? Estudo comparativo de 40 casos

Lima MM, Santos FN, Bautzer VR, Macedo EM, Oliveira EA, Souza CL, Velloso ED, Silveira PA, Colombini MP, Bezerra AM, Pasqualin DC

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Introdução: Mieloma Múltiplo (MM) é uma neoplasia hematológica caracterizada pela proliferação clonal de células plasmáticas na medula óssea, com produção de imunoglobulinas anômalas. Segundo o "International Myeloma Working Group", para o diagnóstico de MM é necessária a presença de pelo menos 10% de plasmócitos clonais em medula óssea e de proteína monoclonal sérica ou urinária. A quantificação de plasmócitos, essencial para o diagnóstico, pode ser realizada em aspirado (mielograma) e/ou biópsia de medula óssea. Ocasionalmente pode ocorrer discordância entre o percentual encontrado por estas análises morfológicas, dificultando o diagnóstico. Dado que a biópsia de medula não é procedimento isento de riscos, há dúvidas sobre a necessidade da realização deste exame por ocasião do diagnóstico. **Objetivo:** Quantificar plasmócitos em aspirado e biópsia de medula em portadores de MM ao diagnóstico e pré tratamento e analisar possíveis discordâncias. **Métodos:** Foram revisados prontuários e lâminas de 40 pacientes com MM que, ao diagnóstico, foram submetidos a aspirado e biópsia de medula no Hospital Israelita Albert Einstein. O percentual de plasmócitos foi determinado no aspirado pela contagem diferencial em 250 células nucleadas e na biópsia o percentual foi estimado em material submetido à coloração por hematoxilina-eosina e imuno-histoquímica (CD138, kappa e lambda). **Resultados:** Considerando como critério a presença de mais de 10% de plasmócitos, o diagnóstico de MM foi possível

em 97,5% das biópsias, e em 72,5% dos aspirados, com mediana de plasmócitos de 30% (5% a 90%) e 15,4% (0,4% a 84%) respectivamente para biópsia e para o aspirado. Em 12 (30%) casos, não houve concordância entre os Métodos, sendo que em apenas um caso o percentual de plasmócitos foi maior no aspirado do que na biópsia. Ao verificar as possíveis causas de discordância entre os Métodos, evidenciamos que em 27,3% os sítios de coletas não foram os mesmos (esterno e crista ilíaca); em 18,9% dos casos o mielograma mostrava importantes sinais de diluição; em 27,3% das amostras de aspirado, a quantificação não atingiu 10%, porém o valor era próximo e a morfologia das células evidenciava discrasia plasmocitária, possibilitando o diagnóstico. Em 55% das amostras o padrão histológico de infiltração não era maciço, com aspecto nodular e/ou intersticial, e em alguns casos com fibrose medular concomitante. **Conclusão:** A biópsia de medula óssea mostrou-se mais sensível que o aspirado medular para o diagnóstico inicial de MM. Este resultado corrobora dados prévios de literatura e as recomendações do "International Myeloma Working Group" que sugere a investigação morfológica por estas duas metodologias. Lembramos que o aspirado permanece indispensável para coleta de material para análise por citometria de fluxo e citogenética, fundamentais para avaliação inicial da doença.

0241

Expansão de células mesenquimais estromais multipotentes em microcarregadores de poliestireno

Bezerra HL^{1,2}, Caruso SR¹, Cândido KS¹, Fernandes TR¹, Fontes AM¹, Swiech K^{1,3}, Delfino MO¹, Covas DT^{1,4}

¹ Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Departamento de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

⁴ Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

As células mesenquimais estromais multipotentes (CMM) são uma grande promessa no campo da medicina regenerativa. Elas podem ser isoladas a partir de quase qualquer tecido do corpo e após a expansão exibem propriedades muito semelhantes. Suas propriedades imunomodulatórias as tornam atraentes agentes terapêuticos para uma ampla gama de doenças. No entanto, são exigidas altas doses de células em ensaios clínicos. Sistemas de biorreatores associados a outras tecnologias de cultivo têm sido desenvolvidos como alternativas aos sistemas de cultivo celular onde são utilizadas garrafas estáticas devido à sua facilidade de monitorização e controle, bem como a possibilidade de produção celular aumentada. Tais sistemas mantêm as características imunofenotípicas destas células. Em função da necessidade do aperfeiçoamento da técnica de expansão de CMM em biorreatores, o objetivo foi comparar 3 tipos de microcarregadores aplicáveis num bioprocessamento escalonável, economicamente viável e eficiente para expansão de CMM da medula óssea. Para isso, as células foram cultivadas em microcarregadores de poliestireno (P 102-L), microcarregadores de poliestireno cationicamente carregados (P Plus 102-L) e microcarregadores de poliestireno revestidos por fibronectina recombinante (Pro-F 102-L) com o meio α -MEM suplementado com SFB. Foram avaliados a adesão celular aos microcarregadores, crescimento, metabolismo e recuperação celular final. Os Resultados obtidos mostraram que foi possível expandir as CMM nos microcarregadores revestidos por fibronectina recombinante de maneira mais eficiente do que nos outros 2 tipos de microcarregadores aqui utilizados. A análise do metabolismo ce-

lular do cultivo em microcarregadores revestidos por fibronectina recombinante mostrou que não houve exaustão de glicose e que a produção de lactato foi compatível com a proliferação celular não atingindo níveis que inibissem o crescimento das células. As células recuperadas após a expansão mantiveram as características imunofenotípicas. Os dados preliminares da produção média (n=8) representou uma expansão de 5,3 vezes durante um período de 7 dias de cultivo. Os Resultados demonstraram a viabilidade da expansão da CMM em um sistema escalonável de cultura agitado baseado em microcarregadores representando um importante passo para a implementação de boas práticas de produção compatível com um sistema de produção em larga escala de CMM da Medula Óssea para a terapia celular. Além disso, o procedimento de cultivo aqui apresentado pode ser aplicado em um sistema de cultivo livre de componentes animais.

0242

Fatores que podem influenciar o sucesso do isolamento das células-tronco mesenquimais do cordão umbilical

Forte A¹, Kuhn TI¹, Sekiya EJ², Alves A²

¹ CordCell - Centro de Terapia Celular

² Instituto de Ensino e Pesquisa São Lucas, São Paulo, SP

Introdução: Células-tronco mesenquimais (CTM) são células-tronco multipotentes que podem ser diferenciadas em diversos tipos celulares. Essas células podem ser isoladas de diferentes fontes, como medula óssea, sangue do cordão umbilical, pulmão, líquido amniótico, fígado, tecido adiposo e do tecido do cordão umbilical. O tecido do cordão umbilical pode ser considerado uma fonte ideal para isolamento dessas células devido à facilidade de coleta com baixo risco de contaminação. **Objetivo:** Avaliar fatores que podem influenciar o isolamento e cultivo das CTM a partir do tecido do cordão umbilical. **Métodos:** Após consentimento informado foram coletados tecidos do cordão umbilical (n=35) de neonatos a termo sadios logo após o parto. O tamanho do cordão, a presença de coágulo interno e o tempo de isquemia foram avaliados previamente. A veia do cordão umbilical foi cateterizada, adicionado 0,1% de colagenase tipo I e incubado a 37°C por 15 minutos. A suspensão de células extraídas foi centrifugada por 10 minutos e ressuspendida em ALPHA-MEM suplementado com 2% de anti-anti e 10% de SFB. Após contagem, a suspensão de células foi plaqueada com uma densidade de aproximadamente 5 x10⁵ células. As culturas foram mantidas a 37°C em ambiente com umidade controlada a 5% de CO₂. O meio da cultura foi trocado a cada 2-3 dias. O tempo para obter 80% de confluência das colônias de células foi medido e tabulado. As culturas sem células aderidas após três dias foram descartadas. As CTM foram caracterizadas por citometria de fluxo e submetidas a um ensaio de diferenciação, confirmadas por imunocitoquímica. **Resultados:** Das 35 culturas foi possível isolar e cultivar as células na técnica padrão de 14 tecidos com tempo de isquemia igual ou inferior a 12 horas, apesar do tamanho dos cordões serem diferentes. Os tecidos com tempo de isquemia menor que 6 horas e mais de 15 cm de comprimento atingiram 80% de confluência em até 4 dias. O tempo para obter 80% de confluência das culturas a partir de cordões de tamanhos diferentes com o mesmo tempo de isquemia foi significativamente diferente em períodos de 6 a 48 horas (teste t de Student). Avaliando apenas a influência do tempo de isquemia há diferença significativa no sucesso da cultura, exceto quando se compara amostras isquêmicas de 12 e 24 horas. A presença de coágulos não evidenciou influência sobre o isolamento de CTMs ou sobre o crescimento das células. **Discussão:** Os tecidos com menor tempo de isquemia e comprimento maior apresentaram os melhores Resultados justificados pelo menor tempo em que o tecido esteve em condições de estresse e pela ação enzimática em uma área maior. Consi-

derando os cordões com mais de 10 horas de isquemia e grande comprimento, houve similaridade no tempo da primeira passagem da cultura, porém a maior parte dessas culturas não conseguiram ultrapassar 4 passagens. Esse resultado pode ser devido à perda da capacidade de proliferação das células. **Conclusão:** O cordão umbilical tem se mostrado uma excelente fonte de CTM em terapia celular, no entanto é importante considerar dois fatores relacionados à obtenção: o tamanho do cordão e o tempo de isquemia. A presença de coágulos na veia do cordão aparentemente não influência o isolamento ou a proliferação das CTM.

0243

TLR-9 priming of mesenchymal stromal cells prevents abrogation of modulatory activity caused by TLR-4 stimulation

Sangiorgi B^{1,2}, Haddad R¹, Schiavinato JL^{1,2}, Santos DF³, Covas DT^{1,3}, Zago MA^{1,3}, Panepucci RA^{1,3}

¹ National Institute of Science and Technology in Stem Cell and Cell Therapy - INCTC, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Centro de Terapia Celular – CTC, Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Graft Versus Host Disease (GVHD) is a complication resultant from the immunologic incompatibility between donor and host after bone marrow transplant (BMT), triggering an inflammatory response against hosts tissues. As many patients do not respond to the current therapies, new strategies for GVHD treatment are necessary. Multipotent mesenchymal stromal cells (MSC) can suppress the proliferation of activated lymphocytes both *in vitro* and *in vivo*, and for these reasons, they are currently been tested for the treatment of GVHD. Despite the ongoing research, the effectiveness of *in vitro*-expanded MSC infusions is extremely variable. In part, this is attributed to the patients' characteristics variability itself, as the occurrence of viral and bacterial infections due to the impairment of immune system. It is believed that MSC interact with fragments of these pathogens through Toll Like Receptors (TLR), which are responsible for the recognition of Pathogens Associated Molecular Patterns (PAMPs). As MSC are provided with different *Toll-Like* Receptors (TLR), we hypothesized that different TLR ligands could differentially affect the immunomodulatory properties of MSC. In order to test this, we evaluated the ability of MSCs to suppress the proliferation of activated CD3+ T lymphocytes, following pre-treatment with the ligands LPS (TLR-4 ligand) and CPG-ODN (TLR-9 ligand), alone or in combination. MSCs were seeded in 24 well plates and treated (or not) with LPS (1µg/ml), CPG-ODN (1µM) or LPS (1µg/ml) and CPG-ODN (1µM) simultaneously. After 24h, fluorescently labeled (CFSE) CD3+ T cells were activated with anti-CD2/CD3/CD28 beads and co-cultured with the MSCs (ratio CD3+ T cells/MSCs of 5:1). As control, activated CD3+ T cells were cultured in the absence of MSCs. 5 days after, cells were collected and the percentage of proliferated lymphocytes (those with "diluted" CFSE staining) in each sample was determined by flow cytometry (n=3). A One-Way-ANOVA test was used to statistically access significance, using Prism 5 software. Compared to MSC alone, TLR4 stimulation hampered the immunosuppressive ability of MSC by 50%. In contrast, TLR-9 stimulation had no significant effect on MSC when used alone. Strikingly, when in conjunction with TLR-4, TLR-9 stimulation was able to completely preserve the immunosuppressive potential of MSC. Our results suggest that pre-stimulation of MSCs with a TLR-9 agonist may protect them from signals derived from bacteria, allowing for a more robust and effective treatment of patients with GVHD affected by disseminated infections.

0244

Indução da atividade transcricional de nanog por micro-RNAs sintéticos

Lima IM¹, Sastre D², Zapata LM¹, Fráguas MS³, Haddad R⁴, Covas DT^{3,4}, Zago MA^{3,4}, Panepucci RA⁴

¹ Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Laboratório de Genética Humana e Médica, Universidade Federal do Pará – UFPA, Belém, PA

³ Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

⁴ Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Células-tronco pluripotentes induzidas (iPS) são aquelas obtidas a partir da reprogramação nuclear de células somáticas, pela introdução viral de diferentes fatores de pluripotência (como, Oct4, Sox2, Klf4, cMyc ou *Nanog*), que induzem e mantêm uma rede de auto-regulação, controlando a pluripotência. Diversos grupos vem desenvolvendo abordagens alternativas para driblar o uso de vetores virais, além de transpor a barreira da baixa eficiência na geração destas colônias. Os micro-RNAs (miRs), pequenas moléculas que atuam bloqueando a tradução ou induzindo a degradação de seus mRNAs alvos, tem recebido atenção crescente nesta abordagem. Nosso grupo identificou um conjunto de miRs relacionados à pluripotência e à diferenciação celular, capazes de modular importantes vias de sinalização, no sentido de facilitar a reprogramação celular. Com isto em vista, o presente estudo teve como objetivo avaliar a indução e ativação do fator *Nanog*. Para isso, 1,5x10³ fibroblastos humanos (células BJ) foram distribuídos em placas de 96 poços e 24h após, foram submetidos a uma transdução lentiviral com 2 construtos: 1) gene de *Renilla*-Luciferase sob controle de um promotor constitutivo CMV (controle endógeno para normalização); e 2) gene de *Firefly*-Luciferase sob controle de um promotor contendo sítios de ligação para *Nanog*. Simultaneamente, as células foram transfectadas com moléculas sintéticas precursoras (pré-miRs) dos miR-302b e miR-106a, e moléculas inibidoras (anti-miRs) dos miR-29a e miR-145. Como controle, foram utilizados pré e anti-miRs inespecíficos, em células BJ também transduzidas. Em seguida, as células foram encubadas por 72h e submetidas a um ensaio de bioluminescência, utilizando substratos específicos para as enzimas *Firefly* e *Renilla* Luciferases (kit Dual-Glo - Promega). Como controle experimental, a linhagem BJ, assim como a linhagem pluripotente NTERA-2 foram similarmente transduzidas conforme descrito acima e, adicionalmente, com controles lentivirais negativos (*Firefly* sem promotor funcional) e positivos (CMV-*Firefly*). Conforme esperado, o controle negativo não apresentou atividade do gene repórter, enquanto o controle positivo o fez. Ainda, o repórter sob controle de *Nanog*, teve uma ativação significativamente maior em NTERA-2, quando comparado com a atividade observada nos fibroblastos (aumento de 5,5 vezes, p<0,001; n=4). Finalmente, as células submetidas ao tratamento com o *set* dos pré e anti-miRs, apresentaram um aumento da atividade de *Nanog* de 19%, comparado aos miRs controles (p=0,090; n=4). Apesar de preliminares, estes Resultados, corroboram com os Resultados de análises de expressão gênica realizadas previamente por nosso grupo. Tendo em vista que a avaliação da atividade transcricional do repórter de *Nanog* foi avaliada apenas 72h após uma única transfecção do conjunto de pré e anti-miRs, nossos Resultados se mostram extremamente promissores. Isto é reforçado pelo fato de que (como verificado por nosso e por outros grupos), os fibroblastos só dão indícios de sua reprogramação após transfecções seriadas de miRs ao longo de vários dias. Novos ensaios estão em curso, de forma a confirmar definitivamente os Resultados obtidos. Nossa abordagem indica que o uso de vetores lentivirais, contendo genes repórteres da luciferase, sob controle de *Nanog*, são uma alternativa viável para a avaliação de abordagens alternativas de reprogramação. **Suporte:** Fapesp, CNPq.

0245

Generation of iPS-like colonies by introduction of mix of micRNAs related with pluripotency and stem cell early differentiation

Fráguas MS^{1,2}, Sastre D^{1,3}, Lima IM^{1,2}, Góes AA², Haddad R¹, Schiavinato JL^{1,2}, Covas DT^{1,2}, Zago MA^{1,2}, Panepucci RA^{1,2}

¹ National Institute of Science and Technology in Stem Cell and Cell Therapy - INCTC, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Institute of Biologic Sciences, Universidade Federal do Pará – UFPA, Belém, PA

Induced pluripotent stem cells (iPS) are retroviral-transduced cells (by introduction of *Oct4*, *Sox2*, *Klf4* and *c-Myc* transcription factors), functionally and phenotypically similar to embryonic stem cells (ESC). Among alternatives for the potentially harmful genetic modifications currently used, microRNAs (miRs) have emerged as a promising field. In fact, the ectopic expression of specific miRs preferentially expressed in pluripotent stem cells (SC), was shown to enhance the efficiency or to directly promote reprogramming of somatic cells into iPS cells, without invasive genetic modifications. Previously, we identified whole-genome gene targets and molecular processes modulated by pluripotency-related miRs: miR106a and miR302b. We found that several components of pathways previously implicated in opposing pluripotency, self-renewal and somatic cell reprogramming, were highly directly targeted to degradation by these miRs. Likewise, for anti-miR29a transfections we found upregulation of central components of active DNA demethylation (TET1 and TDG). Importantly, Tet1 gene is directly controlled by Oct4 and Sox2 and is induced concomitantly with 5hmC during reprogramming. Moreover, promoters of pluripotency factors are enriched for 5hmC and bound by Tet1. Here, we aimed explore the potential roles of 4 synthetic miRs (4 miRs) on iPS reprogramming. Two miRs centrally involved in pluripotency maintenance (mimics pre-miR302b and pre-miR106a), and 2 miRs involved in early differentiation (inhibitory anti-miR145 and anti-miR29a) were transfected into human BJ fibroblasts. After 72h, whole-genome transcriptomes were obtained by oligonucleotide microarrays. Reprogramming-associated molecular changes were identified by comparing miR-induced changes to transcripts modulated upon iPS reprogramming (as determined by comparing two distinct iPS to the corresponding fibroblasts of origin). Pathways modulated by the miRs were identified using the DAVID Tool and selected targets were confirmed by qRT-PCR. Moreover, from several transfections of 4 miRs set, we generated colonies morphologically resembling iPS colonies. Therefore, we detected *Nanog* positive activity by luciferase bioluminescence assay, as well as pluripotency markers activity, by confocal microscope analysis on 4 miRs transfected BJ cells. All transfections effects were normalized to the mock transfectants in which unspecific control miRs molecules were used. Among pathways with a significant enriched number of transcripts, we identified as highly confident of 4 miRs targets, seven of nine components centrally involved on Polycomb repressive PRC2 Complex (including: HDAC1, HDAC2, SUZ12, EZH2, EED, YY1 and RBAP46). PRC2 complex is an epigenetic effector, essential for stem cell self-renewal and pluripotency gene expression during somatic cell reprogramming, that mediates gene silencing through histone post-translational modifications. In summary, our results demonstrate that the 4 miRs set transfection was capable to enhance the expression of some pluripotency-related genes. Also importantly, our results indicate that our protocol can be applied to generate iPS-like colonies (maybe in partially reprogrammed state). Finally, our findings contribute to the understanding of how microRNA modulation may contribute for somatic cell reprogramming. **Support:** FAPESP, CNPq.

0246

A potential role of cluster Mir-17-92 in the first steps of T cell development *in vitro*

Oliveira LH^{1,2,3}, Schiavinato JL^{1,2,3}, Araujo AG^{1,2,3}, Palma PV³, Covas DT^{1,2,3}, Zago MA^{1,2,3}, Panepucci RA^{1,2,3}

¹ University of São Paulo – USP, SP

² Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ National Institute of Science and Technology in Stem Cell and Cell Therapy - INCTC, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Introduction: The development of T lymphocytes requires a specific microenvironment of the thymus, in which hematopoietic progenitor cells (HPC) receive signals that activate Notch signaling pathway. Also, events ongoing in thymus are responsible, in part, for the established and maintenance of self-tolerance within the T cell compartment. Despite the growing attention of microRNA (miRNA) in hematopoiesis and development, the set of miRNA with specific roles in commitment, differentiation and selection of T progenitors is still elusive. **Objective:** In attempt to explore gene expression and miRNA potential regulatory mechanisms regulated by Notch, *in vitro*, we use a recent co-culture system based on OP9 murine stromal cells, expressing Delta-like-1 (OP9-DL1). **Methods and Materials:** CD34+ HPC were immunomagnetic selected from umbilical cord blood (n=4) after informed consent. 12 hours post co-culture with OP9-DL1 or OP9-GFP (control), CD34+ cells were sorted and both miRNA and mRNA expression profiles were performed using *Agilent microarrays*. A search for primary microRNA (pri-miRNA) residing in host genes were carried and the selected transcripts were compared to miRNAs differentially expressed between both conditions. Finally, we validated our findings by Real-time PCR, using *GAPDH* for normalization and the control OP9 sample as reference. **Results:** We identify 21 miRNA down-regulated and 5 miRNA up-regulated in CD34+ cells cocultivated with OP9-DL1 compared to control. Among the down-regulated miRNA, the polycistronic cluster miR-17-92, (originally described as an "oncomiR" and frequently related with cancer progression), were highly represented by its members miR-17, miR-18a, miR-19a and miR-20a. Evaluation of pri-miR transcripts by RT-PCR, revealed a significant lower expression in CD34+ cells after Notch stimulus compared to control (p=0.0237). In accordance, miRNA cluster 17-92 targets as IL1RAP, the pro-apoptotic protein BIM and the regulator of cell growth RICTOR were up-regulated in CD34 cultivated with OP9-DL1, as observed by mRNA microarrays analysis. **Conclusion:** Considering the anti-apoptotic function of miR-17-92, we hypothesized that the down-regulation of this cluster and the consequent up-regulation of its pro-apoptotic targets, may render lymphocytes more prone to negative selection of autoreactive T precursors in the thymus. These results are in line with a recent work revealing that an overexpression of the miR-17-92 in transgenic mice leads to autoimmune disease and may contribute to understanding the role of the miR-17-92 during T development and may open perspectives to elucidate the understanding of autoimmunity and lymphoproliferative diseases. **Financial Support:** FAPESP, CNPq and FINEP.

0247

Necrose maciça de medula óssea em LMA secundária a SMD/SMP: Relato de caso

Souza CL, Macedo EM, Lima MM, Santos FN, Bautzer VR, Oliveira EA, Bezerra AM, Pasqualin DC, Kondo AT, Dichtchekian V, Silveira PA

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Introdução: A Necrose de Medula Óssea é entidade clínico-patológica relativamente incomum. Caracteriza-se por necrose do estroma medular e tecido mielóide, restando um fundo eosinofílico com células necróticas. A etiologia é diversa, podendo incluir: sepse, anemia falciforme, tuberculose, drogas, CIVD, microangiopatias trombóticas, drogas e neoplasias, sendo as hematopoiéticas a causa mais comum. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 59 anos, iniciou acompanhamento de lesões cutâneas em MMII associado a leucocitose (30.000/mm³) com neutrofilia e monocitose. Na ocasião, foi iniciado investigação para doença mieloproliferativa com FISH negativo para *JAK2* e *BCR/ABL*, tendo LMMC como hipótese diagnóstica inicial. Manteve este padrão por 3 anos quando evoluiu com aumento do baço e plaquetose de 1.545.000/mm³. Biópsia de medula apresentava 90% de celularidade, predomínio de série granulocítica, agregados linfóides reacionais, plasmocitose leve, ausência de ALIPs, série megacariocítica hiperplásica e ausência de fibrose. Apresentava cariótipo normal. Iniciado Hidroxiuréia e com quatro meses do uso passou a apresentar anemia com necessidade transfusional persistente mesmo após redução da dose, além de síndrome de hiperviscosidade com 2.730.000/mm³ plaquetas, que foi tratada com plaquetaférese e corticoterapia em altas doses. Evoluiu sem resposta, sendo iniciado uso de Anagrelide. Após um mês, foi internado com quadro de lombalgia, febre e calafrios associado a candidíase oral e insuficiência respiratória. Hemograma apresentava anemia (Hb 8,2 g/dL) e leucopenia (leucócitos 440/mm³) com plaquetas de 183.000/mm³. Colhido mielograma que continha apenas material necrótico. Foi realizada então imunofenotipagem de sangue periférico que mostrava 37,5% de células blásticas com características mielóides. FISH era positivo para *FLT3-ITD* e negativo para *NPM1*. Iniciado tratamento com Daunorrubicina e Citarabina. Dois dias depois, apresentou choque séptico devido infecção de corrente sanguínea por *Candida krusei*, que rapidamente evoluiu para endocardite infecciosa em valva aórtica, sem condições de abordagem cirúrgica devido a gravidade do caso. Após 24 dias do início da quimioterapia, foi repetido estudo de medula que evidenciava medula óssea hipocelular, além de biópsia que mostrava necrose de padrão coagulativo, extensa necrose de elementos hematopoiéticos, sombra de células de núcleos grandes e aumento do depósito de hemossiderina. Paciente evoluiu a óbito 31 dias após diagnóstico. **Discussão:** A necrose de medula óssea é entidade rara, e, portanto, só será diagnosticada se considerarmos a sua possibilidade. Numa revisão recente em nosso serviço, de todas as biópsias de medula óssea realizadas de janeiro de 2010 a junho de 2012 (1400 casos) só foi encontrado esta única ocorrência. Não há achados clínicos característicos, mas o sintoma mais comum é a dor lombar baixa, conforme apresentada por nosso paciente. A anemia e trombocitopenia estão presentes em cerca de 80 a 90%. O aspirado de medula óssea evidencia material amorfo, sem células reconhecíveis morfológicamente, podendo ser necessárias múltiplas aspirações e/ou biópsia de medula para o efetivo diagnóstico. A necrose de medula óssea está relacionada a prognóstico reservado, com gravidade dependendo da idade, doença de base e terapia administrada, sendo a sobrevida de semanas a meses nos casos associados a neoplasia.

0248

The production and characterization of erythroid/myeloid progenitor and mature cells from human embryonic stem cells

Costa EB^{1,2}, Orellana MD², Magalhães DA², Wagatsuma VM², Silva RB², Moreira LF², Haddad SK², Covas DT², Fontes AM^{1,2}

¹ Department of Genetics, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² National Institute of Science and Technology in Stem Cell and Cell Therapy - INCTC, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Studies with human embryonic stem cells (hESCs) lines have generated new perspectives about the hematopoietic system development as in attempting to mimic what naturally occurs during embryonic development as for clinical application of hematopoietic cells obtained from the differentiation of these cells. Numerous studies have shown the production of hematopoietic cells derived from hESCs with primitive functional properties, and with varying amounts of cells and low efficiency. Thus, this study sought to establish a novel model for hESC-H1 differentiation in hematopoietic cells so that they could be better characterized and obtained more efficiently. We developed a differentiation system based on co-culture of hESC-H1 line with murine stromal cells in differentiation medium supplemented with fetal calf serum and cytokines/hematopoietic growth factors in low concentrations. As a result, the development of this study allowed the establishment of a method for generation of mixed population of cells enriched in hematopoietic progenitor cells positive for CD45 marker, which proved to be co-expressed with other hematopoietic markers (CD43, CD31, CD71 and CD38), and mature hematopoietic cells positive for erythroid (CD235a, >20%) and myeloid (CD14, CD15, CD16, >50%)-specific markers, all of them with morphological characteristics typical. It was shown that these cells expressed genes related to primitive and definitive hematopoiesis (CD45, CD31, runx1, TAL1, LMO2, prom1, CD34 and NOTCH1), and had clonogenic potential *in vitro* of 1/574 plated cells. Scanning electron microscopy analysis revealed the interaction of hematopoietic cells with stromal cells within the microenvironment created *in vitro*. In addition to ontogeny studies of hematopoiesis, we corroborate the findings that hematopoietic cells have two distinct origins: they can arise as from the hemogenic endothelium as from cells with hemangioblastic properties by hemogenic endothelium-independent way. The observations of the predominance of lineage-specific precursors during differentiation opens up alternatives to select specific cell populations to direct the differentiation to specific mature hematopoietic lineages *in vitro* for future clinical applications and insights into ontogeny of hematopoietic lineages, both in ES cell-derived cultures and during normal development. Cytochemical, ultrastructural and functional studies *in vivo* are being conducted to better characterize these cells. **Financial Support:** CNPq, INCTC, FAPESP, FINEP.

0249

An effective cryopreservation of human embryonic stem cell using dimethylsulphoxide and hydroxyethylstarch combination

Orellana MD¹, Santis GC¹, Magalhães DA¹, Costa EB², Oliveira VC³, Prata KL¹, Palma PV¹, Abraham KJ², Fontes AM¹, Covas DT¹

¹ National Institute of Science and Technology in Stem Cell and Cell Therapy - INCTC, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Department of genetics, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Human embryonic stem cells (hESCs) are candidates for many applications in the areas of regenerative medicine, tissue engineering, basic scientific research as well as pharmacology and toxicology. An effective freezing-thawing technique is crucial for clinical application and developing hESCs banking. The aim of this study was to evaluate the recovery rate of freezing/thawing hESCs using a combination of dimethylsulphoxide (DMSO) and hydroxyethylstarch (HES) diluted in serum replacement (SR) solution. The efficiency of this cryopreservation solution was evaluated in two slow-freezing applications in mechanical freezer (-80°C) and in a programmable cryopreservation system. This study shows for the first time the combination of two cryoprotective reagents composed of HES, DMSO in SR solution to establish a new slow-freezing protocol with high

recovery rates of undifferentiated hESC. The use of 10% DMSO + 20% HES + 70% SR medium combined with mechanical detachment protocol in programmable and in mechanical freezer leads to efficient hESC cryopreservation. We showed that the recovery rates of hESC colonies (in programmable and in mechanical freezer, respectively) with 10% DMSO + 20% HES + 70% SR medium were higher than with Defined-medium® (3.88 and 2.9 vs 1.05 and 1.07; $p = 0.000006903$ and $p = 0.04322$) and higher than with classical medium 10% DMSO + 20% SR + 70% DMEM (3,88 and 2.9 vs 0.5 and 0.51, $p = 0.0005136$ and $p = 0.0004253$). Furthermore, after thawing hESCs showed typical morphological characteristics, were positive for expression pluripotent markers, could still differentiate into the 3 germ layers, and showed normal karyotype. This new protocol allows, using simple steps without dedicated instrumentation, an efficient and economical hESC cryopreservation, ideal for hESC banking.

0250

Regiões genômicas susceptíveis à inserções de vetores lentivirais em células-tronco pluripotentes induzidas

Reis LC^{1,2}, Castro VP², Bressan FF³, Covas DT^{2,4}, Carbolante EM^{1,2}

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

⁴ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Introdução: As células células-tronco pluripotentes induzidas (iPS) surgiram com a promessa de contornar as limitações das células-tronco embrionárias, como questões éticas, segurança, compatibilidade e disponibilidade. Estas células podem ser obtidas a partir de células somáticas normais ou de pacientes com doenças genéticas, fazendo destas uma importante ferramenta para o *screening* de drogas, modelos de doenças e testes toxicológicos. Grandes avanços ocorreram na reprogramação de células pela expressão forçada de fatores de transcrição (FT), principalmente, através de vetores lentivirais (VL), que proporcionam uma reprogramação eficiente. Entretanto, a inserção lentiviral no genoma humano e sua influência na reprogramação é pouco conhecida. Neste trabalho, avaliamos o perfil de inserção dos VL utilizados na geração de iPS. **Métodos:** As iPS foram geradas e caracterizadas por nosso grupo a partir de fibroblastos humanos transduzidos com VL contendo 3 FT [SOX2, TCL-1A e C-MYC (célula TSM)], e de células mesenquimais derivadas de tecido adiposo com um vetor lentiviral policistronico contendo 4 FT [OCT4, SOX2, KLF4 e C-MYC (iPS 4FT)]. Cinco colônias isoladas de cada iPS foram mapeadas e analisadas quanto aos sítios de inserção pela técnica de LM-PCR. O DNA genômico digerido foi utilizado na realização da técnica com um *primer* específico para o LTR viral e outro para um *linker* sintético. Os produtos foram clonados e sequenciados, e as sequências obtidas foram analisadas em bancos de dados para identificar similaridades com o genoma humano, entre outras análises. **Resultados:** Das sequências analisadas, 176 sequências da célula TSM apresentaram identidade com o genoma humano, sendo que cerca de 50% ocorreram em regiões gênicas com 94% destas ocorrendo em introns. Já nas iPS 4FT, 251 sequências apresentaram identidade, com cerca de 45% atingindo genes, 92% destas em introns. As inserções distribuíram-se por todos os cromossomos, com predominância pelo 16, 17 e 20 para a TSM e pelo 11, 15 e 17 para a iPS 4FT. Analisamos a distância da inserção ao sítio de início de

transcrição (TSS), e inserções próximas a ilhas CpG, que em geral correspondem a regiões regulatórias. A maior proporção de inserção ocorreu a partir de ± 30 Kb de distância desses sítios, com nenhuma inserção atingindo até ± 1 Kb de distância do TSS e das ilhas CpG nas TSM e apenas 0,6% e 0,3% das inserções atingindo até ± 1 Kb de distância do TSS e das ilhas CpG, respectivamente, nas iPS 4FT. Os sítios frágeis e as regiões repetitivas do genoma foram atingidas, mas com uma frequência baixa. **Conclusão:** Os Resultados mostram uma preferência de inserção lentiviral por regiões gênicas nas iPS, indicando a participação de proteínas como LEDGF/p75 na integração nesse tipo celular, como nas células somáticas. Vários estudos mostraram uma preferência do lentivírus por unidades transcricionais, porém a maioria focam células somáticas, e as células-tronco (CT) possuem características únicas, como por exemplo, um padrão único de preferência das CT pluripotentes por telômeros. Conhecer as diferenças existentes entre as CT pluripotentes e as células somáticas é crucial já que as células iPS são uma grande aposta para a terapia gênica. E identificar fatores que influenciem a seleção do sítio de inserção é necessário para determinar regiões cromossômicas "seguras" para a integração, aumentando a segurança no uso clínico.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: BIOLOGIA

0251

Situações de pseudoplaquetopenia não identificadas pelos contadores hematológicos automatizados

Neves AP, Queiroz AK, Maia EM, Amorim FS, Santana JL

Centro Universitário Cândido Rondon – UNIRONDON, Cuiabá, MT

A pseudoplaquetopenia é um fenômeno de falsa contagem de plaquetas presente em 0,1% da população de pessoas saudáveis, sendo não patológica e causada pela formação de microagregados de plaquetas *in vitro*, podendo em alguns momentos não ser identificadas pelos contadores hematológicos automatizados. **Objetivo:** O presente estudo tem por objetivo discutir situações que levam a pseudoplaquetopenia, e propor conhecimento das situações de não identificação pelos contadores hematológicos automatizados. **Métodos:** Neste estudo foram consultas a partir das palavras chaves plaquetas, pseudoplaquetopenia e contadores hematológicos automatizados, as bases de dados Pubmed, Medline e Scielo. Para tal pesquisa, foram selecionados 14 artigos publicados no período de 1995 a 2008, que mencionavam o assunto proposto e que fazem parte desta revisão literária. **Conclusão:** A pseudoplaquetopenia é um fenômeno laboratorial que deve ser investigado, visto que os casos encontrados devem ser diferenciados das situações reais de plaquetopenia. Embora seja difícil avaliar a frequência, recomenda-se aos profissionais uma padronização das amostras de sangue colhidas com anticoagulante EDTA, e o uso de anticoagulantes alternativos quando necessário. A confirmação pela hematoscopia dos Resultados inconclusivos liberados pelos contadores automatizados e uso diário de amostras controle no setor da Hematologia, são medidas importantes que, sobretudo pode acrescentar maior confiabilidade aos Resultados.

0252

Influência de temperatura e de tromboplastina homóloga e heteróloga em tromboelastometria de aves

Thomazini CM, Takahira RK, Trentin TC, Sartori JR

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Botucatu, SP

O uso de aves e outras espécies animais como modelo experimental para o estudo de hemostasia representa um desafio à pesquisa científica. A dificuldade decorre da falta de testes específicos e reagentes homólogos comerciais para acessar os mecanismos funcionais da coagulação das aves. As diferenças entre as aves e os mamíferos estão presentes especialmente na estrutura e função das proteínas envolvidas na coagulação. A tromboelastometria é o exame que melhor reflete a participação celular na coagulação fornecendo uma avaliação completa do sistema hemostático a partir dos dados sobre as cinéticas da geração do coágulo até o processo de fibrinólise. O interesse no uso da tromboelastometria vem aumentando, especialmente pelo potencial desta avaliação em captar eventos hemorrágicos e trombóticos com antecipação, porém a utilização de reagentes heterólogos pode comprometer o diagnóstico das coagulopatias. O objetivo desse estudo foi comparar as tromboplastinas de ave e mamífero como ativadores da coagulação em duas temperaturas diferentes para a realização da tromboelastometria de aves. As amostras de sangue total citratado foram coletadas da veia jugular de cinco frangos de corte machos de 31 dias de idade e submetidas à tromboelastometria (ROTEM®) a 37 e a 40°C dentro de 15 a 20 minutos após a coleta. A tromboplastina comercial derivada de mamífero (Extem®) foi obtida do fabricante (ROTEM®) e a aviária foi extraída do encéfalo de frango de corte. Os Resultados mostraram que a tromboplastina homóloga apresentou um TC (Tempo de Coagulação) mais curto e um MCF maior (Firmeza Máxima do Coágulo) em ambas as temperaturas. A tromboplastina homóloga resultou num MCF maior (Firmeza Máxima do Coágulo) a 37°C do que a 40°C, a despeito desta ser a temperatura corporal das aves. O CFT (Tempo de Formação do Coágulo) e o ângulo alfa não demonstraram nenhuma diferença com a mudança do fator tecidual ou temperatura. Estas diferenças podem implicar em baixa sensibilidade ou especificidade nos Resultados dos testes quando utilizados diferentes tipos de tromboplastinas e temperaturas na tromboelastometria como ferramenta de estudo e diagnóstico da hemostasia de aves. Os autores reforçam a importância da escolha de protocolos e reagentes no estudo de hemostasia comparada utilizando o modelo aviário. Financiamento: Fapesp

0253

Estudo de resposta de cultura utilizando-se soro bovino fetal e soro de plasma rico em plaquetas

Donato PM¹, Golim MA¹, Magnoni MS¹, Peracoli MT², Murador P¹, Machado PE¹

¹ Hemocentro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Botucatu, SP

² Departamento de Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Botucatu, SP

As plaquetas são fragmentos do citoplasma do megacariócito e possuem papel fundamental na manutenção da hemostasia. Ao aderirem uma às outras, ativam-se, mudam de forma e liberam grânulos que contêm fatores de crescimento, proteínas que atuam na divisão celular. Os grânulos α -plaquetários secretam fatores de crescimento que regulam eventos, tais como, síntese de DNA, quimiotaxia e citodiferenciação. A estocagem prolongada das plaquetas a 22°C é prejudicial à viabilidade e à função, mesmo quando estocadas em condições adequadas nos bancos de sangue. Observa-se diminuição de concentração de glutatión intraplaquetário, representando diminuição da proteção contra o stress oxidativo, do qual resulta da perda do grupo sulfidril. As plaquetas desempenham funções com consumo de energia, como por exemplo a diapedese, que pode ser recuperada após cinco dias de armazenamento pelo azul de metileno. Durante a divisão celular há necessidade de bloqueio das funções citoplasmáticas com aumento da produção de proteínas de adesão para que ocorra a fixação da célula que vai se dividir. Os Resultados mostraram que quando adicionamos azul de meti-

leno, a quantidade de células viáveis diminui com o aumento de apoptose e necrose, muito provavelmente devido à liberação de energia. "Trabalho Laureado com o prêmio "Miguel Couto 2011" pela Academia Nacional de Medicina. Agradecimento: A Valéria Alves da Silva pelo apoio técnico.

0254

Síndrome de Rendu-Osler-Weber: Relato de caso

Figueiredo SS^{1,2,3}, Lack AT², Medeiros LL², Angelo GK²

¹ Hemocentro da Paraíba, João Pessoa, PB

² Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba – FCM-PB, João Pessoa, PB

³ Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande, PB

Introdução: A Telangiectasia Hemorrágica Hereditária (HHT), também denominada síndrome de Rendu-Osler-Weber, é uma patologia autossômica dominante, que se caracteriza por telangiectasias cutâneas, epistaxe e malformações arteriovenosas viscerais. Apresenta uma prevalência que varia de 1 em 10.000 a 1 em 5000. Nos pacientes acometidos pela síndrome na sua mais alta expressividade, as lesões angiodisplásicas afetam muitos órgãos, tais como o trato gastrointestinal, cérebro, pulmão, fígado, derme e cavidade nasal, sendo responsáveis por hemorragias recorrentes e graves. O diagnóstico clínico de THH é baseado nos critérios de Curação determinados pelo conselho científico da Fundação Internacional de HHT com base em quatro parâmetros: "1) epistaxe-espontânea, hemorragias nasais recorrentes; 2) telangiectasias-múltiplas, em locais característicos (lábios, cavidade oral, dedos, nariz); 3) lesões viscerais, como telangiectasia gastrointestinal (com ou sem sangramento), AVMpulmonar, hepáticaAVM, AVMcerebral, AVMespinal 4) história familiar de um parente de primeiro grau com THH". **Relato de Caso:** S.B.S., 64 anos, sexo feminino, foi encaminhada ao ambulatório de hematologia do Hemocentro da Paraíba em 23.07.02 apresentando anemia acentuada (3,5 g/dl) hipocrômica e microcítica, com leucócitos e plaquetas normais. A paciente apresentava história de epistaxes repetidas e sangramentos gastrointestinais recorrentes, tendo sido submetida a uma avaliação com o otorrinolaringologista, o qual não detectou anormalidade intra-nasal. A paciente foi internada para receber concentrados de hemácias (01 bolsa em dias alternados por cinco dias) e para investigação diagnóstica. Durante o período de investigação, a paciente permaneceu com anemia e episódios recorrentes de epistaxes e melena. Em 26.03.04, a paciente chegou ao serviço de hemotransfusão apresentando episódio de epistaxe, além de lesões vasculares em mãos, pés e língua compatíveis com manifestação de telangiectasia. Quando interrogada sobre casos semelhantes na família, o resultado foi positivo. Foi, então, realizado o diagnóstico clínico de síndrome de Rendu-Osler-Weber. Desde então, a paciente vem apresentando anemia e ferritina baixa, porém com leucócitos e plaquetas adequados, além de inúmeros episódios de epistaxes associados a queixas como dispnéia aos médios/grandes esforços, astenia e tontura. Está sendo acompanhada por uma equipe multidisciplinar e tratada com Sulfato ferroso endovenoso, por apresentar intolerância a via oral. Eventualmente, é indicada para a paciente hemotransfusão com concentrado de hemácias. **Conclusão:** A Síndrome de Rendu-Osler-Weber ou Telangiectasia Hemorrágica Hereditária é uma patologia rara, mas de diagnóstico relativamente fácil. Seu tratamento de escolha é a terapia de suporte, visando essencialmente à prevenção de complicações e promoção da qualidade de vida do portador.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: DOENÇAS DA COAGULAÇÃO E FIBRINÓLISE

0255

Investigação de mutações associadas com a doença de von Willebrand 2N em pacientes com suspeita de hemofilia a leve e moderada

Vieira IA, Rosset C, Salzano FM, Bandinelli E

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

A doença de von Willebrand (DvW) é a doença hemorrágica hereditária mais prevalente, sendo transmitida como um caráter autossômico e resultante de mutações heterogêneas no gene do fator de von Willebrand (FvW). A DvW é caracterizada pela deficiência qualitativa ou quantitativa do FvW, uma glicoproteína plasmática que promove a adesão e agregação plaquetárias e protege o fator VIII da coagulação (FVIII) da degradação proteolítica no plasma. O subtipo 2N (Normandy) é uma forma rara da DvW decorrente de uma deficiência qualitativa dessa proteína e está associado a mutações localizadas nos éxons 18 a 27. Esses éxons codificam os domínios D'e D3, os quais se ligam ao FVIII. Na DvW 2N ocorre uma diminuição significativa da afinidade do FvW pelo FVIII, levando a sua degradação prematura, indicada nos Resultados laboratoriais pela diminuição de sua atividade (FVIII: C), e níveis normais ou limítrofes de FvW, o que representa um perfil fenotípico que mimetiza a hemofilia A (HA) leve ou moderada. O padrão de herança da DvW 2N é autossômico recessivo e os indivíduos afetados podem ser homocigotos para uma mesma mutação ou heterocigotos compostos para mutações diferentes. As mutações mais frequentemente encontradas são: Arg854Gln, Arg816Trp e His817Gln. O objetivo desse trabalho é investigar a presença dessas mutações em 13 pacientes com suspeita clínica de HA leve ou moderada. Os pacientes apresentaram média de FVIII: C de 20,23 U/dL (DP= 15,18), tendo sido estudadas até o momento as mutações Arg816Trp e His817Gln, localizadas no éxon 19 do gene do FvW. As mutações foram detectadas pela técnica de PCR/RFLP utilizando-se as enzimas de restrição *MspI* e *NlaIII*, respectivamente. Foi identificado um paciente homocigoto para a mutação Arg816Trp, o qual apresenta média de FVIII: C igual a 6 U/dL (característico para HA leve) e níveis normais de FvW (FvW: Ag =123 U/dL), tratando-se de um caso esporádico. O resultado corrobora estudos publicados anteriormente, em que a presença da mutação Arg816Trp, seja em homocigose ou em heterocigose composta, está associada a níveis inferiores de FVIII. Na próxima etapa, pretende-se testar a presença da mutação Arg854Gln, bem como investigar a presença de outras mutações, menos frequentes e já descritas, nos pacientes negativos para as três analisadas. O presente estudo contribui para uma abordagem de diferenciação entre HA (leve ou moderada) e DvW 2N, a qual é comumente sub-diagnosticada devido a fatores como a indisponibilidade de testes laboratoriais, sendo o principal deles o ensaio de afinidade de FvW pelo FVIII, e dificuldades técnicas para a realização dos mesmos. Essa diferenciação é essencial para o aconselhamento genético e a definição da terapia adequada.

0256

Deteção de mutações gênicas e patologia molecular em pacientes com hemofilia a leve e moderada

Rosset C, Petry-Gorziza R, Ornaighi AP, Bandinelli E, Salzano FM

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

A Hemofilia A (HA) é uma doença hemorrágica hereditária causada pela redução ou ausência da atividade do Fator VIII da coagulação (FVIII), devido a mutações no gene (F8) que codifica a proteína. O padrão de herança é recessivo ligado ao X, e os pacientes podem ser classificados em três grupos (graves, moderados e leves) de acordo com as características clínicas apresentadas e a quantidade de FVIII produzida. A doença apresenta grande heterogeneidade clínica, devido, entre outros fatores, à enorme variedade de mutações descritas no F8. De acordo com o banco de dados *online Haemophilia A Mutation Database* (HAMSTeRS, 2012), existem mais de 1200 mutações que resultam em hemofilia A e um grande número de trabalhos publicados que descrevem mutações, realizados em diferentes populações. Entretanto, a análise molecular permanece sendo importante, pois há necessidade de estudos comparativos das frequências das mutações em diferentes populações ainda não estudadas. O trabalho visa à detecção de mutações gênicas em pacientes com hemofilia A leve e moderada do Rio Grande do Sul através do sequenciamento direto dos 26 éxons do F8 e análise do papel dessas mutações na determinação da doença, relacionando através da bioinformática as mutações encontradas com os fenótipos dos pacientes. O sequenciamento inclui as regiões 5'UTR e 3'UTR e as junções de éxons e íntrons e utiliza PCR com 35 pares de *primers*. Um total de 83 pacientes masculinos sem parentesco, com hemofilia A leve (n=48) ou moderada (n=35) foram incluídos no estudo. As sequências do F8 dos pacientes foram comparadas com sequências referência, através do alinhamento pelo programa *CodonCode Aligner* implementado no MEGA 5.04. As mutações encontradas foram comparadas com as listadas no banco de dados (HAMSTeRS) e confirmadas em ambas as fitas de DNA. Quando mutações ainda não descritas foram encontradas, o éxon correspondente a esta mutação foi sequenciado em 100 controles saudáveis. O efeito das mutações foi avaliado por três *softwares* que predizem um possível impacto da substituição de aminoácidos na estrutura e função de uma proteína (*Polyphen -2*, *Site Directed Mutator [SDM]* e *HOPE [Have yOur Protein Explained]*). Até o momento, foram sequenciados os primeiros 10 éxons e os éxons 14 e 26. Foram encontradas mutações em 41 pacientes, sendo 20 diferentes mutações, 3 ainda não descritas no banco de dados. Dentre essas, 15 são mutações de sentido trocado, 3 são inserções, 1 pequena deleção e 1 em um provável sítio de processamento de RNA. Apenas uma mutação já descrita foi predita como benigna. As três mutações novas (Thr135Ala, Val266Met e Gly304Val) foram consideradas patogênicas; dentre essas, a mutação Thr135Ala está situada em um provável sítio de ligação de íons cálcio, que pode ser abalado pela mutação. Outras mutações encontradas alteram a formação de pontes de hidrogênio, estabilidade da proteína e se localizam em resíduos muito conservados, o que usualmente indica que a mutação é danosa para a proteína. Esse estudo fornece importantes ferramentas para análises bioquímicas e predição de alterações na estrutura tridimensional da molécula do FVIII, melhorando a compreensão da relação genótipo/fenótipo e sugerindo mecanismos causais diferentes para a hemofilia A, além da melhor compreensão da genética molecular da doença na população estudada.

0257

Polymorphisms in the II-10 gene are important risk factors for inhibitor development in Brazilian severe haemophilia a patients

Rosset C, Botton MR, Agostini D, Vieira IA, Kappel D, Petry-Gorziza R, Bandinelli E, Salzano FM

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

The main problem facing the replacement therapy in severe haemophilia A patients is the development of Factor VIII (FVIII) inhibitors. Many environmental factors such as type of treatment, age of its onset and frequency of administration undoubtedly play a role

in inhibitor formation. Moreover, several patient-related factors have been associated to the risk of inhibitor development, such as ethnicity, FVIII gene mutation type, family history of inhibitors and especially those related to the immune system. The aim of this study was to investigate 15 polymorphisms related to five immune genetic systems (*HLA-G*, *PTN22*, *IL4* and *IL10*, *TNF α* , and *CTLA-4*), some of them never studied in this context, in 136 severe European-derived Brazilian haemophilia A patients, 39 with and 97 without inhibitors. Single nucleotide polymorphisms were genotyped using real time PCR; *HLA-G*, *PTN22* and *CTLA-4* were tested through direct PCR and restriction fragment length analysis. We found an association between -819C>T ($p = 0.024$; OR 3.21) and -592C>A ($p = 0.016$; OR 3.00) polymorphisms in the *IL-10* gene and inhibitor development. The haplotype TA also shows a significant value ($p = 0.028$; OR 2.61). Statistically non-significant differences were observed in all other comparisons, in agreement with some, but not all previous studies. Since the *IL-10* association was previously independently found in an ethnically diverse population, the significance of our finding is strengthened. This result can be important for the development of new therapeutic strategies to prevent the formation of inhibitors in patients with a higher risk for this condition.

0258

Perda dentária e fatores associados em pacientes portadores de coagulopatias no Estado da Paraíba

Rodrigues LV, Medeiros JJ, Camêlo MD, Oliveira CR, Valença AM, Neto EA

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: A perda dentária compromete uma condição biológica, a mastigação, e uma condição psicológica, a auto-estima, e, além disso, traz deficiências para a vida cotidiana dos indivíduos, inclusive dificuldades de relacionar-se socialmente. **Objetivo:** Identificar o índice de perda dentária por cárie e fatores associados em pacientes portadores de coagulopatias assistidos no Hemocentro de João Pessoa e Campina Grande, Paraíba, Brasil. **Métodos:** Estudo de caráter epidemiológico, transversal e com abordagem quantitativa. A amostra foi composta por 81 pacientes de 1 a 59 anos, portadores de algum tipo de coagulopatia por deficiência de fator da coagulação, cadastrados no programa Web Coagulopatias do Ministério da Saúde e que procuraram o serviço do Hemocentro para atendimento no período de outubro/2011 a julho/2012. Foram coletadas informações relativas à condição socioeconômica, a morbidade autorefereida, a auto percepção de saúde bucal e ao acesso e utilização de serviços odontológicos mediante formulário padronizado pelo SB Brasil 2010. Com relação aos prontuários de atendimento médico e odontológico dos pacientes, verificou-se o tipo de coagulopatia apresentada, idade e local de residência. O exame das condições de saúde bucal foi realizado por uma examinadora previamente calibrada ($\kappa > 0,85$), adotando-se os códigos e critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) e registrados em odontogramas. Os dados foram analisados por meio de estatística descritiva e inferencial por intermédio do Teste de Qui-Quadrado, testando-se a associação entre a variável Perda Dentária Tolerável para a idade-índice e demais covariáveis ($p\text{-valor} \leq 0,05$). **Resultados:** A população de portadores de coagulopatias na Paraíba é predominantemente do sexo masculino (87,65%; $n=71$), da raça parda (64,2%; $n=52$), com média de idade de 26,65 anos, renda salarial entre R\$501 a R\$1.500,00 e média de anos de estudo de 8,12. Com relação à média de dentes perdidos, cariados e obturados, constatou-se, respectivamente uma média de 4,64 (mín=0; Max=32), 1,69 (mín=0; Max=11) e 5,05 (mín=0; Max 20). O ceo-d médio foi de 2,7 e o CPO-D se situou em 12,47. No que diz respeito à associação da variável perda dentária tolerável para a idade-índice e covariáveis, houve significância quanto ao número de dentes perdi-

dos ($p\text{-valor}=0,00$; OR=1,06), com a idade ($p\text{-valor}=0,00$; OR=1.12), ao número de bens que o paciente possuía em sua casa ($p\text{-valor}=0,05$; OR = 1.07), com o fato de o último motivo na qual se procurou o dentista foi para realizar extração dentária ($p\text{-valor}= 0,02$; OR= 13,18), com o ato de escovar os dentes incomodar ($p\text{-valor} = 0,02$; OR= 3.03), de ter vergonha de falar ou sorrir ($p\text{-valor} = 0,03$; OR= 3,07), e de usar flúor ($p\text{-valor}= 0,02$; OR= 4,40). **Conclusão:** Conclui-se que há um alto índice de perda dentária nos pacientes portadores de coagulopatias na Paraíba e que as variáveis número de dentes perdidos, idade, procura pelo dentista para extração dentária, o incomodo ao escovar, a vergonha de sorrir e de falar são fatores de risco e o número de bens materiais e o uso do flúor são fatores de proteção. Descritores: Perda de dente, Doenças hematológicas, Saúde bucal.

0259

Perfil sociodemográfico e auto-percepção da saúde de pacientes com hemofilia atendidos na fundação Hemominas

Andrade BV, Salomon T, Carvalhais BM, Almeida NB, Martins PR, Chaves DG, Brener S

Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Belo Horizonte, MG

A hemofilia é uma doença hemorrágica hereditária caracterizada clinicamente pelo tempo prolongado de coagulação sanguínea, o que pode ocasionar hemartroses e comprometer movimentos de articulações de membros superiores e inferiores. A hemofilia A é causada pela deficiência ou disfunção do fator VIII (FVIII) e afeta 1-2/10.000 meninos nascidos vivos. A hemofilia B é determinada pela deficiência ou disfunção do fator IX (FIX), afetando 1/30.000 bebês do sexo masculino. O estudo observacional transversal em desenvolvimento é parte integrante da pesquisa "Avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde em pacientes portadores de hemofilia A e B atendidos na Fundação Hemominas". O projeto objetivou determinar o perfil socioeconômico e demográfico, estilo de vida e auto-percepção da saúde dos pacientes com hemofilia atendidos nos ambulatórios de hematologia de oito unidades regionais da Fundação Hemominas, que apresentavam maior número de pacientes cadastrados, distribuição geográfica abrangente e características regionais diferenciadas. Questionário informatizado foi elaborado especificamente para a pesquisa e foram utilizados os programas EpiData para entrada de dados e SPSS para análise estatística. Foram entrevistados pacientes com hemofilias A e B que compareceram aos ambulatórios das unidades, maiores de 18 anos, sem comprometimento cognitivo que não permitissem resposta ao questionário e que concordaram em participar da pesquisa, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. De um total de 484 indivíduos cadastrados, 53 foram excluídos por falta de registro de contato, não comparecimento, mudança de endereço/cidade/estado ou déficit cognitivo, 12 se recusaram a participar, 250 estão em fase de busca ativa por telefone/carta e 169 foram entrevistados. Destes, 89 (49,7%) tinham entre 18 a 29 anos, 95 (56,2%) eram solteiros, 112 (66,3%) não tinham filhos, 18 (10,7%) tinham cursado até a 4ª série do ensino fundamental, 51 (30,2%) possuíam ensino médio completo e 29 (17,2%), superior completo. Dos entrevistados, 123 (73,2%) pararam os estudos, sendo que 45 (36,6%) devido à hemofilia. Grande parte dos entrevistados não estava trabalhando (81 - 47,9%), sendo que 50 (62,5%) por motivos relacionados às complicações da doença. O ganho mensal teve uma mediana de 1,30 salários mínimos (S.M.), com mínimo de 0,10 S.M. e máximo de 16,50 S.M.. Informaram possuir casa própria 125 (74,0%) dos entrevistados. Tinham irmão(s) com hemofilia 69 (41,8%). Relataram ter: hipertensão 14,3% dos indivíduos, depressão 7,7%, hepatites 44,6% e HIV 3,1%. Usavam bebida alcoólica 74 (40,9%) e deles,

três (4,1%) de 3 a 5 vezes por semana. Fumavam 26 (14,4%) dos pacientes. Dos 41 (24,3%) indivíduos que procuraram outras unidades da Fundação Hemominas, 23 (56,1%) estavam em busca de atendimento complementar e 5 (12,5%) de fator de coagulação. O perfil do paciente com hemofilia no estado de Minas Gerais é: indivíduo entre 18 e 29 anos, solteiro e sem filhos, sem irmão(s) com hemofilia, com ensino médio completo, que interrompeu os estudos devido à hemofilia, está trabalhando, e tem mediana de renda mensal de 1,30 S.M., possui casa própria, participa do programa de dose domiciliar, recebe sempre atenção suficiente às suas queixas, explicações sobre doença e tratamento e considera sua saúde muito boa ou boa. Financiamento: FAPEMIG e Fundação Hemominas.

0260

Anti-inflammatory/regulatory cytokine profile stimulates the development of anti-FVIII IgG4 inhibitors in hemophilia A

Santana MA^{1,2}, Filho OAM², Chaves DG¹

¹ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Belo Horizonte, MG

² Centro de Pesquisa René Rachou – FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG

Introduction: Hemophilia A (HA) is a hereditary bleeding disorder linked to the X chromosome characterized by a deficiency or defect in the coagulation factor VIII (FVIII). Individuals with this coagulopathy require constant infusions of FVIII to maintain their physical integrity and hemostasis. During treatment some patients develop alloantibodies against FVIII, also called inhibitors and more frequently IgG4, affecting the FVIII pro-coagulant activity. Some patients develop anti-FVIII IgG1 antibodies that have little or no inhibitory activity. Although the clinical relevance of FVIII inhibitors, the immune mechanisms that lead to its production are unknown. **Objective:** The objective of this study was to investigate the plasma cytokine profile of HA patients with and without FVIII inhibitors and healthy individuals and correlate to the leukocyte activation findings of our group. **Method:** This cross-sectional study involved subjects classified into three groups: healthy individuals (n=20), HA patients without FVIII inhibitors (n=20) and HA patients with FVIII inhibitors (n=20). Peripheral blood samples (10mL) were collected into sodium heparin containing tubes. Samples were centrifuged at 1,500rpm for 15 minutes at room temperature. The plasma fractions were centrifuged at 14,000rpm for 10 minutes and the supernatant was separated for cytokine quantification. The dosage of IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4, IL-5 and IL-10 was performed in accordance with the Th1/Th2 CBA kit manual for human cytokines (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). The data were analyzed using the FCAP software v1.0.1 (BD, Franklin Lakes, NJ, USA). **Results and Conclusions:** The results showed that healthy individuals and patients without inhibitors have a mixed profile of cytokines (higher levels of TNF- α , IFN- γ and IL-4). Additionally, HA patients with FVIII inhibitors showed an anti-inflammatory/regulatory cytokine profile (higher levels of IL-5 and IL-10) which may be related to development/maintenance of FVIII inhibitors. Our findings confirm results obtained previously and suggests that the pro-inflammatory modulated immune response (i.e. increased IFN- γ and TNF- α secreted by T cells, controlled by IL-4+ T cells and IL-10+ B cells) may favor the synthesis of anti-FVIII IgG1, avoiding the development of anti-FVIII IgG4 inhibitors. We hypothesize that the anti-inflammatory/regulatory microenvironment determined mainly by neutrophils and monocytes, and basal levels of cytokines produced by T and B cells may favor the synthesis of anti-FVIII IgG4 inhibitors. **Financial Support:** FAPEMIG and Fundação Hemominas.

0261

Biologia sintética para a produção de biofármaco para hemofilia A

Caron AL^{1,2}, Santos AR¹, Souza LE¹, Rocha-Junior MC¹, Bonfim-Silva R¹, Orelana MD¹, Gibson DG³, Venter JC³, Covas DT¹, Fontes AM¹

¹ Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ John Craig Venter Institute – JCVI

A hemofilia A é uma doença genética ligada ao cromossomo X causada pela deficiência do fator VIII da coagulação sanguínea (FVIII). Os tratamentos atuais consistem na reposição intravenosa do FVIII derivado do plasma ou o recombinante. Até o momento há apenas duas proteínas recombinantes comerciais no mercado. Ambas produzidas em células murinas, o que aumenta a imunogenicidade da proteína. Portanto, o desenvolvimento de novas moléculas é essencial. Em 2010, o grupo do Instituto Venter pela primeira vez sintetizou o genoma de um organismo procaríote, a bactéria *Mycoplasma mycoides*. Esse estudo conduziu-nos a hipótese de que integrar a biologia molecular, celular e virologia com a biologia sintética permite o desenvolvimento de um Biofármaco Sintético da coagulação que poderá ser utilizado na terapia de reposição para Hemofilia A. Sendo assim, geramos um vetor lentiviral portador de dois genes sintéticos: o FVIII com o domínio B parcialmente deletado e o gene marcador de seleção Neomicina. Após 7 ciclos de transdução na linhagem celular hepática SK-HEP-1 foram geradas duas linhagens celulares SK-HEP-SintFVIIIWT Δ B-MOI6 (MOI6) e SK-HEP-SintFVIIIWT Δ B-MOI20 (MOI20) que diferiram quanto ao MOI (multiplicity of infection) utilizado nas transduções lentivirais. Ao fim das transduções foi realizado o tratamento com elevadas doses de geneticina. Após a recuperação do tratamento as linhagens celulares SkhepsintFVIII Δ Bwt foram caracterizadas quanto aos níveis permanentes de expressão do RNAm relativo ao FVIII, os níveis de atividade da proteína funcional *in vitro* pelos ensaios cromogênico e APTT e a quantificação proteica por ELISA. A análise de expressão estável do RNAm do FVIII nas células MOI6 e MOI20 foi 8.505,00 \pm 2.179,00 e 14.206,00 \pm 1.590,00 vezes superior aos níveis encontrados na célula virgem, respectivamente. O ensaio cromogênico detectou atividade de 0,80 \pm 0,32 UI FVIII/ml e produtividade de 1,33 \pm 0,02 UI FVIII/106 células na população de MOI6 e 1,31 \pm 0,26 UI FVIII/ml e 2,69 \pm 0,46 UI FVIII/106 células na população de MOI20. O ensaio aPTT mostrou atividade de 127,33 \pm 16,50% e 133,30 \pm 6,03% nas populações de MOI6 e MOI20, respectivamente. Em ambos os ensaios de atividade, os valores detectados para as populações transduzidas foram equivalentes aos do plasma humano (p=0,0001). Um teste de Pearson (r) demonstrou que os valores de ambos os ensaios apresentam forte correlação (r²=0,9078). A concentração da proteína encontrada foi de 314,27 \pm 121,82 ng FVIII/ml e 655,14 \pm 4,91 ng FVIII/ml nas populações de MOI6 e MOI20, respectivamente, pelo ELISA. A concentração da proteína do FVIII encontrada no sobrenadante de MOI20 foi maior que os valores do sobrenadante de MOI6 e do plasma humano, que foram equivalentes (p=0,0001). O estudo demonstrou ser possível a geração de novas moléculas funcionais do FVIII produzidas sinteticamente e, sua integração no genoma das células após múltiplos ciclos de transdução, possibilitou a obtenção de duas populações celulares com níveis de produção permanente do FVIII equivalentes aos encontrados no plasma sanguíneo. A validação da utilização de uma molécula sintética funcional na produção de um bioproduto extrapola os limites da Hemofilia e se mostra uma alternativa para estudos com outras doenças monogênicas onde o tratamento consiste na reposição da proteína deficiente.

0262

Polymorphisms in blood coagulation related genes versus the diversity of clinical effects of hemophilia AAlmeida NB^{1,2}, Santana MA¹, Chaves DG¹¹ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Belo Horizonte, MG² Universidade Fumec, Belo Horizonte, MG

Introduction: Hemophilia A (HA) is one of the most common bleeding disorders with hereditary transmission. The severity and frequency of bleeding in patients are related to residual FVIII activity in plasma. Approximately 50% of patients have the severe form of the disease (FVIII activity < 1%) and they have frequent spontaneous bleeding in joints, muscles and internal organs. The moderate form of the HA (FVIII activity of 2-5%) occurs in 10% of patients after small causing hemorrhagic trauma. The mild form (FVIII activity of 5-30%), which occurs in 30-40% of patients, is associated to bleeding episodes that occurs only after significant trauma or surgery. Although the classification according to the HA severity there is considerable heterogeneity in the clinical progression of the disease. As an example, a subset of patients (10-15%) with severe HA has clinically mild disease manifestations. Some studies suggest that this heterogeneity is caused by polymorphisms in other related to the blood coagulation that can encode proteins with a gain of function in the clotting process. **Objective:** In this context, the objective of this study is to investigate the influence of polymorphisms in Factor VII (FVII) (G/A 323), Protein C (PC) (A/G -1641) and Protein S (PS) (A/G 2148) and their influences on the diversity of the clinical effects of HA. **Methods:** Peripheral blood samples of HA patients treated in the Belo Horizonte Blood Center of Fundação Hemominas are collected in sodium citrate containing tubes. Genomic DNA samples are extracted, amplified to the regions of interest of FVII, PC and PS genes and genotyped using specific restriction enzymes. The fragments obtained are displayed on 12% polyacrylamide gel stained with ethidium bromide. **Results:** Until now samples of 16 patients with moderate (27.3%) and severe (73.7%) HA were collected. In this group a considerable portion of patients is carrying polymorphisms related to gain in coagulation activity: 50.0% for PS, 18.7% for FVII and 35.8% for PC. The genotyping data demonstrated that 37.5% of the tested patients are carrying at least two polymorphisms related to better clot function. These results demonstrate the importance of studying the clinical and genetic differences between HA patients and can be promising in the improvement of the individual and differential treatment. Finally, our research group aims to establish correlations between the tested polymorphisms and the differences in clinical manifestations of HA patients. **Financial Support:** FAPEMIG and Fundação Hemominas.

0263

Impaired thrombin generation in patients with dengue

Orsi FL, Angerami R, Mazetto BM, Quaino SK, Paula EV, Annichino-Bizzachi JM

Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introduction: Bleeding complications are a main problem in dengue. Besides thrombocytopenia and plasma leakage, coagulation disorders may also be involved in the pathological mechanisms of bleedings. The association between dengue hemorrhagic fever (DHF) and activation of coagulation pathways is controversial. Long activated partial thromboplastin time (aTTP) was demonstrated in some but not all clinical studies in patients with DHF, while *prothrombin* and thrombin times seems to remain unchanged in these patients. Thrombin generation test (TGT) is a global test of coagulation

that determines the maximum thrombin generated (thrombin peak) and the total thrombin generated along time (AUC) triggered by tissue factor, in plasma. TGT has been widely used in determining the integrity of coagulation mechanisms and the response to replacement therapy with hemostatic agents, with reproducible results. Aim: To evaluate the coagulation disorder in patients with dengue by TGT. Patients and **methods:** Twenty-three patients with confirmed dengue infection were included in the study between January and May 2010, during the disease outbreak in Campinas, SP, Brazil. Twenty-three healthy individuals from the same geographic area and paired with the patients by age and gender, were selected as controls. TGT was performed in the platelet-poor plasma (PPP) of all patients and controls and determined by fluorescence assay. Continuous data were compared using non-parametric Kruskal-Wallis analysis. **Results:** Seventeen patients were classified as dengue fever (DF) and 6 as DHF. Mild or moderate bleeding episodes were observed in all DHF and in 4 (23%) DF patients. Median platelets counts were 86,500/uL (3,000-400,000/uL) and 14500/uL (5,000-24,000/uL) in DF and DHF, respectively (P<0.001). Blood counts of hemoglobin, hematocrit and leucocytes were similar between dengue groups. Values of aPTT and INR were within the normal range or slightly increased, median aPTT was 14.4" (13 – 24") and INR was 1.1 (0.9 – 1.8) in dengue patients. However, thrombin generation was decreased in patients with dengue. Median thrombin peak levels were 338,7 nM (145-512,2 nM) in controls, 278,2 nM (70,7 – 432,3 nM) in DF and 226,1 nM (92,2 – 326,7 nM) in DHF (P=0,017). Median AUC values were 3753 (2230-4906) in controls, 3178 (1513-4284) in DF and 2488 (1232-3284) in DHF (P=0,004). **Conclusion:** Our results suggest that the thrombin generation is impaired in patients with DHF. Interestingly, patients with DF may also present with bleeding complications and impaired TGT. The causes for coagulation disorders in dengue are not fully understood, plasma coagulation factors seem to have normal activity while the activity of natural anticoagulants may be altered in patients with DHF. Previous studies have failed to confirm the coagulation disorder in dengue possibly because none of them has used global coagulation tests, such as TGT, before. It is possible that the decreased thrombin generation, in association with plasma leakage and thrombocytopenia, contributes to bleeding disorders in dengue.

0264

Púrpura trombocitopênica trombótica desencadeada por pseudo-tumor inflamatório: relato de caso raro

Benevides TC, Dias MA, Percout PO, Moura MS, Mazetto BM, Ozele MC, Colella MP, Paula EV, Orsi FL, Annichino-Bizzachi JM

Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: A púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) é uma doença rara que cursa com anemia microangiopática, plaquetopenia e alterações neurológicas ou renais. Ocorre principalmente pela formação de autoanticorpos contra a ADAMTS13, causando deficiência grave desta enzima. Até 60% dos casos são secundários, destes, apenas 20% são desencadeados por anticorpos anti-ADAMTS13. O tratamento requer associação de plasmaférese e corticoterapia. Na PTT secundária, a doença de base deve ser tratada. Apesar de bem estabelecidos na literatura, o diagnóstico e o manejo clínico podem ser difíceis devido à raridade da doença. **Relato de Caso:** J.C.S., masculino, 41 anos, previamente hígido. Em março de 2012 iniciou quadro de adinamia, dor abdominal, icterícia, febre, cefaléia e hematúria, sendo inicialmente tratado como leptospirose. Na evolução clínica, apresentou insuficiência renal dialítica, ataque isquêmico transitório e plaquetopenia, sendo transferido para a enfermaria de Hematologia. Os exames mostravam anemia hemolítica microangiopática, plaquetopenia (< 10.000/uL) e aumento da lactato desidrogenase (3 vezes). A atividade plasmática da ADAMTS 13 era de 8% e a pesquisa de

anticorpo positiva, confirmando o diagnóstico de PTT. Foi iniciada plasmáfereze e corticoterapia (prednisona 1mg/Kg). O paciente apresentou remissão clínica após 7 sessões diárias de plasmáfereze, que foram então interrompidas. Nesta época, a atividade da ADAMTS13 era 4,4% e o anticorpo positivo. Durante a investigação etiológica, não se evidenciou nenhuma doença associada, as sorologias, as provas de autoimunidade e o rastreamento neoplásico estavam negativos. A biópsia de medula óssea e a tomografia de tórax eram normais e ultrassonografia de abdome total revelava esplenomegalia discreta. Dez dias após a interrupção da plasmáfereze, o paciente teve exacerbação clínica e a terapia foi intensificada com vincristina e novo ciclo de plasmáferezes. Porém, como não manteve resposta sustentada ao tratamento foi realizada esplenectomia. No pós-operatório, apresentou piora clínica da doença, com atividade da ADAMTS13 de 7,8%. Realizou-se tomografia de abdome que mostrou tumoração de 15 cm, vascularizada no centro e calcificada na periferia, na região retroperitoneal esquerda, que foi ressecada cirurgicamente. A análise anátomo-patológica conclui tratar-se de pseudotumor inflamatório primário, excluindo doença de Castleman, linfoma ou outra neoplasia. Após a ressecção do tumor, o paciente evoluiu com remissão completa da PTT e normalização da ADAMTS 13 (105%), mantendo resposta sustentada desde então (mais de 40 dias após a cirurgia). **Conclusão:** No presente relato, mostramos um caso de PTT provocada por pseudotumor inflamatório primário e localizado. Este tumor provavelmente desencadeou a formação de autoanticorpos contra a ADAMTS 13, levando ao quadro de PTT. As evidências de que o paciente somente apresentou remissão sustentada e normalização da ADAMTS 13 após a retirada do tumor corroboram essa hipótese. Até o momento, foram relatados casos de PTT desencadeada por doenças sistêmicas, infecciosas, autoimunes ou neoplásicas. Não encontramos na literatura nenhum outro caso de PTT secundária a doença benigna localizada. Este caso destaca a importância da investigação etiológica na PTT, da plasmáfereze como terapia adjuvante e da necessidade do tratamento específico da doença de base.

0265

Impacto no consumo de pró-coagulantes agentes de bypassing com a implantação do tratamento de indução de imunotolerância no Brasil

Melo HT, Rodrigues SH, Genovez G

Ministério da Saúde, Brasília, DF

Introdução: A hemofilia é a doença hemorrágica de origem hereditária, caracterizada pela deficiência de fatores de coagulação VIII (hemofilia A) ou IX (hemofilia B). No Brasil, há 8.700 pacientes hemofílicos A e 1.681 hemofílicos B, cuja terapia é feita com a reposição dos fatores de coagulação de origem plasmática deficientes. Ao longo da vida, 5% a 30% dos pacientes com hemofilia A desenvolvem anticorpos IgG direcionados contra os fatores VIII infundidos, que são denominados de "inibidores", e que prejudicam a terapia de resposta à infusão do fator deficiente impedindo o controle das hemorragias. Com o objetivo de tratar os pacientes com inibidor o Ministério da Saúde (MS), implantou em 01/01/2011, em caráter preliminar o Protocolo de Indução de Imunotolerância em Hemofilia A. O tratamento com imunotolerância (IT) consiste na infusão diária ou em dias alternados de fator de coagulação e é capaz de eliminar os inibidores na hemofilia A em 60% a 80% dos casos tratados. Contudo, de acordo com protocolo do MS, na ocorrência de intercorrências hemorrágicas os pacientes submetidos ao regime de IT devem ser tratados com infusão de doses elevadas de fator VIII (título < 5UB/mL), infusão de concentrado de complexo protrombínico (CP) ou de fator VII ativado recombinante (FVIIar) (> 5UB/mL), e é preconizada a utilização de Complexo Protrombínico Parcialmente Ativado (CPPA) apenas após o início do regime de IT. A partir dos

registros de infusão de pró-coagulante nos pacientes incluídos no protocolo de IT no Sistema Hemovida Web Coagulopatias do MS, é possível avaliar o aumento nas infusões destes medicamentos no 1º sem/2012, em comparação ao mesmo período de 2011, o que pode orientar a doação de medidas técnicas e administrativas para melhoria da atenção aos pacientes. **Métodos:** A fim de avaliar o impacto no consumo de agentes de bypassing, verificou-se que entre 1/11/2011 e 30/6/2012 foram incluídos em IT 29 pacientes de todo o país. Avaliou-se, também o consumo de pró-coagulantes CP, CPPA e FVIIar por estes pacientes nos períodos de 1/1 a 30/6 dos anos de 2011 e 2012, verificando-se o impacto no aumento do consumo destes medicamentos. **Resultados:** Considerando apenas o grupo formado pelos 29 pacientes em IT, para o tratamento de intercorrências hemorrágicas diversas, houve um significativo aumento no registro de infusão de agentes de bypassing infundidos nestes pacientes após a inclusão no regime de IT, no 1º sem/2012, quando comparado ao mesmo período de 2011: 225,6% de FVIIar; 33,5% de CPPA; e não houve consumo de CP por estes pacientes (conforme dados de infusão do sistema Hemovida Web Coagulopatias, do MS). Com a implantação da IT, houve um crescimento significativo do consumo de FVIIar nos 29 pacientes incluídos no protocolo para o tratamento de hemorragias. Percebe-se uma pequena utilização de CPPA no grupo. E, não houve consumo de CP por nenhum paciente do grupo avaliado, o que corresponde ao decréscimo no uso deste medicamento no país nos últimos anos, mas que poderia ser mais incentivada, frente ao menor custo deste pró-coagulante em relação aos demais.

0266

Clonagem e expressão de fator ix de coagulação sanguínea em linhagens celulares humanas

Bomfim AS^{1,2}, Castro VP², Freitas MC^{2,3}, Neto MS², Swiech K^{1,2}, Covas DT^{2,3}, Carbolante EM^{1,2}

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - FCFRP, Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP

² Hemocentro de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP

³ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

A hemofilia B é uma doença hemorrágica hereditária recessiva ligada ao cromossomo X, caracterizada pela deficiência quantitativa ou qualitativa do fator de coagulação IX (FIX), o que leva os pacientes a uma incapacidade de produzir adequadamente um coágulo estável após um dano no tecido. Atualmente, o tratamento dessa doença é baseado na administração do fator IX de coagulação derivado de plasma humano ou da proteína recombinante produzida em células murinas, porém essas abordagens apresentam alto custo e estão intimamente associadas à contaminações com vírus e príons, além do desenvolvimento de inibidores de FIX. Não existe ainda nenhum produto comercial derivado de linhagem celular humana que expresse esse fator de coagulação, desta maneira, para a sua produção é necessário a modificação genética de células com vetores contendo o FIX. Alguns trabalhos na literatura demonstram alteração no padrão de crescimento de células modificadas geneticamente, o que pode influenciar a expressão de proteínas heterólogas. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi clonar o FIXh em um vetor lentiviral de terceira geração e avaliar a expressão da proteína recombinante em duas linhagens celulares humanas bem como a cinética de crescimento dessas linhagens modificadas geneticamente. O cDNA do FIXh foi clonado no plasmídeo lentiviral p1054CIGWS sob o controle do promotor CMV. A clonagem do cDNA do FIXh no vetor de expressão lentiviral p1054CIGWS foi confirmada através da análise com enzimas de restrição específicas obtendo-se as bandas esperadas de 1407 pb

e 10054 pb visualizadas em gel de agarose. A produção das partículas lentivirais foi realizada em células 293T, utilizando-se *Lipofectamine™ 2000*, pela tripla transfecção, contendo os plasmídeos p1054CIGWS-FIX, pCMVΔR8.91 e o pMD2.VSVG. O título viral foi determinado por citometria de fluxo. As linhagens celulares 293T e SK-Hep-1 foram transduzidas com o vetor lentiviral p1054CIGWS-FIX gerado em nosso laboratório e as células que apresentaram maior expressão de EGFP foram selecionadas e separadas por citometria de fluxo. As linhagens celulares foram tratadas com vitamina K por um período de 10 dias antes da quantificação da expressão de FIXrh a qual foi realizada por ensaio cromogênico. A atividade biológica volumétrica média de FIXh nas células 293T e Sk-Hep-1 foi 178,62 mU/mL e 164,52 mU/mL, respectivamente, enquanto que a atividade específica média foi 68,9 mU/10⁶ células e 206,6 mU/10⁶ células, respectivamente. A cinética de crescimento das linhagens de origens renal e hepática foi realizada por um período de 7 dias e a contagem de células viáveis foi feita pelo método de exclusão do azul de tripan. O padrão de crescimento das linhagens apresentou diferença entre as células transduzidas e não transduzidas. Entre as transduzidas, as células 293T-FIX-1054 apresentaram uma velocidade específica máxima de crescimento celular (μ_{max}) de 0,0362 ($\pm 0,0021$) h⁻¹, enquanto que as células SK-Hep-FIX-1054 apresentaram μ_{max} de 0,0264 ($\pm 0,0010$) h⁻¹. Nossos dados indicam que as duas linhagens 293T e SK-Hep-1 sintetizam e secretam FIX ativo e que as células renais 293T apresentam um padrão de crescimento melhor, podendo ser mais promissoras na produção dessa proteína em larga escala.

0267

Evolução da aquisição de concentrado de fator VIII plasmático, 2009 A 2011

Magalhaes VL, Melo HT, Viana YA, Rodrigues SH, Genovez G

Ministério da Saúde, Brasília, DF

Introdução: O Sist. Nac. de Sangue, Componentes e Hemoderivados é coordenado pela Coord. Geral de Sangue e Hemoderivados (CGSH) do Min. da Saúde (MS), à qual compete “planejar e coordenar a política de medicamentos estratégicos imprescindíveis à assistência hemoterápica e hematológica” (In. IX, Art. 4º, Dec. 3990/01). Às Unid. Fed., por meio dos Centros de Tratamento das Hemofílias (CTH), compete a “garantia do acesso aos medicamentos estratégicos imprescindíveis aos portadores de doenças hematológicas” (In. V, Art. 8º, Dec. 3990/01). O *Conc. de Fator VIII de origem plasmática (FVIII)* é adquirido e distribuído pelo MS para o tratamento da hemofilia A – doença hereditária causada pela deficiência do fator VIII de coagulação. Entre 2009 e 2011 foi verificado o crescimento da disponibilidade FVIII, a partir da maior aquisição do produto, o que permitiu a implantação de novos procedimentos terapêuticos, aumento das doses domiciliares e terapias profiláticas. **Métodos:** Para avaliar a evolução da aquisição do FVIII pelo MS foi feito levantamento das quantidades adquiridas nos contratos celebrados entre 2009 e 2011. Também, verificou-se o impacto do aumento da aquisição na disponibilidade de FVIII para os CTH, com base na densidade populacional do país entre 2005/2012. **Resultados:** O planejamento das aquisições de pró-coagulantes do MS objetiva o abastecimento dos produtos por um período não inferior a 12 meses, podendo haver, mais de um processo licitatório no período de um ano, em especial no caso do FVIII. Em 2009 e 2010, o somatório da quantidade de pró-coagulantes adquiridos por demanda da CGSH, permitiram a manutenção dos estoques mínimos para consumo nesses anos, sendo: em 2009, 150miUI de FVIII; e, 262miUI em 2010. Ao final 2011, observou-se que o êxito dos processos licitatórios elevaram as aquisições para 1,015 bilhão de UI de FVIII, permitindo o abastecimento da rede em mais de 300miUI naquele ano. Ainda, foram provisionados outros 640miUI para 2012, e a formação de es-

toques de segurança no MS e CTH, até o início de 2013. Apesar do aumento da disponibilidade de FVIII em 2011, o reflexo deste acréscimo para o tratamento da hemofilia A, somente seria melhor percebido e absorvido pelos CTH e pacientes nos anos seguintes, em virtude do aperfeiçoamento do planejamento de aquisições e das condições estabelecidas nos contratos, como prazos de entrega. O crescimento da aquisição de FVIII altera a curva do indicador de disponibilidade do medicamento 2005/2012, ultrapassando as 3,0UI *per capita* de FVIII em 2012, quantidade recomendada pela Fed. Mundial de Hemofilia e OMS, para a atenção mínima necessária de um país, para evitar a *doença articular hemofílica*. Entre 2005 e 2012 o indicador de disponibilidade *per capita* de FVIII, evoluiu da seguinte forma: 0,8; 1,0; 1,1; 1,1; 1,2; 1,3; 1,6; e, 3,2. O aumento na quantidade de FVIII adquirido pelo MS nos últimos anos é um importante avanço para garantir a melhoria do tratamento da hemofilia e implantação de novos procedimentos terapêuticos. Outros desafios a serem superados, são: o acesso ao medicamento, melhoria da infraestrutura de atendimento aos pacientes, formação de recursos humanos e os demais aspectos socioeconômicos envolvidos no tratamento.

0268

Evolução da distribuição de pró-coagulantes vs. infusão de concentrados de fator VIII e FIX, 2009 a 2011

Rodrigues SH, Melo HT, Magalhaes VL, Viana YA, Genovez G

Ministério da Saúde, Brasília, DF

Introdução: As hemofílias A e B são doenças hemorrágicas congênitas, que acometem mais de 11 mil pacientes no país, conforme dados do cadastro nacional constantes no Sistema Hemovida Web Coagulopatias (HWC) gerenciados pela Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados (CGSH) do Ministério da Saúde. O tratamento das hemofílias é realizado com a reposição do fator deficiente, pela infusão intravenosa de concentrado de fator VIII (hemof. A) e/ou IX (hemof. B). Para garantir o tratamento, é necessária a disponibilidade contínua destes pró-coagulantes, que são adquiridos pelo Ministério da Saúde e distribuídos aos Centros de Tratamento de Hemofilia (CTH) do Brasil. A infusão destes hemoderivados é informada no HWC pelos CTH de cada Unid. Federativa e do DF. **Métodos:** Para a análise da evolução da distribuição dos concentrados de fator VIII e IX comparada aos registros de infusão destes hemoderivados, utilizou-se de dados dos relatórios de saída de medicamentos do Sistema Integrado de Administração de Material (SISMAT) do Ministério da Saúde, bem como, os relatórios consolidados do registro de infusões do sistema HWC nos pacientes hemofílicos A e B nos anos de 2009 a 2011. **Resultados:** Nos anos de 2009 a 2011 houve uma evolução significativa da distribuição de pró-coagulantes na ordem de: a) 62% para o fator VIII no período, sendo: 197,2 miUI em 2009; 255,3 miUI em 2010; e, 319,5 miUI; e, b) 43% para o fator IX, sendo: 41,6 miUI em 2009; 61,3 miUI em 2010; e, 59,6 miUI em 2011. O acréscimo na distribuição possibilitou ainda, a melhoria da atenção medicamentosa à hemofilia, demonstrado pelo aumento da infusão no mesmo período, na ordem de: a) 74% para o fator VIII, sendo: 199,5 miUI em 2009; 233,6 miUI em 2010; e, 269,0 miUI em 2011; e b) 38% para o fator IX, sendo: 40,0 miUI em 2009; 49,0 miUI em 2010; e, 55,3 miUI em 2011. **Conclusão:** A maior disponibilidade de pró-coagulantes ofertadas pelo Ministério da Saúde deve-se aos implementos no planejamento das aquisições governamentais e sucesso dos processos de aquisição de pró-coagulantes. A implantação dos tratamentos de Profilaxia Primária para os hemofílicos A e B graves, bem como, a ampliação da dose domiciliar foram iniciativas viabilizadas a partir da maior oferta destes medicamentos. Assim, tornando possível a melhoria do tratamento das hemofílias no país, bem como, da qualidade de vida dos pacientes, permitindo aos CTH a adequação das necessidades clínicas dos pacientes, evitando deficiências e incapacidades dos hemofílicos.

0269

Avaliação do desempenho do coagulômetro Q-Grifols na rotina laboratorial de hemostasia

Montalvão SA, Ferraz BS, Tucunduva AC, Machado TF, Quaino SK, Garcia EP, Annichino-Bizzacchi JM, Paula EV

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: Protocolos robustos de validação são necessários para uma avaliação mais completa do desempenho de um novo produto e o impacto que este pode causar em uma rotina. Q-Grifols é um equipamento automatizado que analisa múltiplos parâmetros da hemostasia, o que inclui ensaios coagulométrico, cromogênico e imunológico. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho do Q-Grifols e compará-lo com o equipamento e método de referência padronizado em nosso laboratório. **Métodos:** O processo de validação foi estabelecido de acordo com protocolo da *Clinical Laboratory Santandard Institute* (CLSI). Foram avaliados TP, TTPA, FV: C, FVW: Ag e FVIII: C por método coagulométrico e cromogênico. Seis parâmetros foram avaliados para cada teste: (1) Linearidade (CLSI EP-6), avaliada por múltiplas curvas de calibração realizadas consecutivamente com amostra padrão de referência, (2) Precisão preliminar (CLSI -10), avaliada com controles normal e patológico (Grifols) 20 vezes em uma mesma rotina, (3) Precisão total (CLSI EP-5A), avaliada no período de 20 dias em 2 replicatas, (4) Potencial de contaminação, utilizado 18 amostras sendo 4 destas contaminadas com heparina (> 1.0 UI/mL UFH), (5) Desempenho de Velocidade, (6) Estudo de correlação (CLSI EP-9), entre os equipamentos. Os testes estatísticos aplicados foram análise de regressão linear (r^2), teste de concordância (Altman-Band), e método de comparação (Passing & Bablok). **Resultados:** 63 amostras foram avaliadas para FVW: Ag, (30 P.DVW, 33 I.Normal), todos os grupos sanguíneos foram inseridos. Três metodologias diferentes foram realizadas: ELISA (método de referência), e dois novos Métodos automatizados (IL/Grifols), o método automatizado mostrou alto grau de concordância com o método de ELISA e a correlação obtida entre as duas últimas metodologias automatizadas foi r^2 0.89. Os testes TP e TTPA foram avaliados quanto à sensibilidade em 140 amostras em diferentes situações (77 TP e 63 TTPA), 29 pacientes sob anticoagulação com Varfarina, 15 pacientes com disfunção hepática, 10 pacientes sob anticoagulação com heparina, 10 pacientes com hemofilia, 10 pacientes com deficiência rara da coagulação e 33 indivíduos normais. Para ambos os testes foram utilizados reagentes sintéticos e de origem animal, sendo observada boa correlação, r^2 0.96 TP e r^2 0.89 TTPA. Diferenças quanto ao tipo de composição dos reagentes, se sintético ou não foram observados em alguns grupos de pacientes. O equipamento foi avaliado quanto à capacidade de contaminação e não apresentou alteração de Resultados na presença de amostras heparinizada (> 1.0 UI/mL UFH). Apresentou um tempo satisfatório na execução de testes individuais e de perfis com mais de um teste, 104 TP/hora e 64 TP e TTPA /hora. **Conclusão:** O equipamento Q Grifols apresentou Resultados aceitáveis quanto à linearidade e precisão, boa sensibilidade dos testes TP e TTPA para investigação de coagulopatias, bem como um alto grau de concordância na avaliação do FVW: Ag por método automatizado em coagulômetro quando comparado com método clássico de ELISA. Sendo este equipamento e reagentes uma nova opção para rotinas de laboratórios de coagulação.

0270

IgG4 subclass of anti-FVIII antibodies is correlated to high-titer inhibitor in hemophilia patients

Montalvão SA¹, Trento T¹, Veiga M², Montenegro MC², Strega A³, Paula EV¹, Colella MP¹, Ozelo MC¹

¹ *Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP*

² *Hemocentro do Paraná – Curitiba, PR*

³ *Hemocentro da Bahia – Salvador, BA*

Introduction: The presence of anti-factor VIII alloantibodies, also called inhibitor, in hemophilia patients compromises the replacement therapy effectiveness. The characterization of immunoglobulin (Ig) subclass has been showed an important role to identify the reactivity of factor (F) VIII concentrate used in the treatment of patients with hemophilia A (HA). Recent studies showed a strong correlation between high levels of anti-FVIII antibodies of subclass IgG4 with high-titre inhibitor and immune tolerance induction (ITI) failure. The objective of this study was to evaluate the characteristics of anti-FVIII IgG subclasses in HA patients with inhibitor. **Method:** We analyzed in this study samples from hemophilia A patients with inhibitor (> 0.6 BU/mL). The anti-FVIII inhibitor was determined by Bethesda assay with the Nijmegen modification. The antihuman-IgG specific for subclasses IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4 (Southern Biotechnology Inc., USA) were performed by ELISA assay using two different plasma-derived FVIII (pdFVIII) concentrates, commonly used in Brazil I) Octavi SD Optimum, (Octapharma, France), and II) 8Y (Bio Products Laboratory, UK). **Results:** Twenty-six patients with congenital hemophilia A with inhibitor were included in this study. The mean age was 23y (range 8 - 49y), and twenty four patients had the diagnosis of severe HA, one moderate HA, and one mild HA. Twenty among twenty-six (77%) were high-responder inhibitors patients, and four of them had low-titre inhibitor (< 5 BU/mL) at the moment of the analysis. IgG1 subclass was positive in 23/26 (88%) patients, and in six low-titer inhibitor patients was the only IgG subclass present. In contrast, IgG4 was positive in all high-titer inhibitor patient, and in only one low-titer moderate HA patient. Furthermore, we also observed a correlation between the signal intensity of IgG4 and the inhibitor titer r 0.67 (Spearman Rank). No correlation between IgG1 positive reaction and the inhibitor titer was observed. We also included in our analysis two different pdFVIII concentrates, one with 100 IU/mg of protein (Octavi SD Optimum, Octapharma), and another intermediate purity pdFVIII concentrate (2 IU FVIII per mg) with high levels of von Willebrand factor (8Y, Bio Products Laboratory). It was observed a considerable reduction in the reactivity with FVIII concentrate 8Y. **Conclusion:** Our results demonstrated that IgG4 subclass of anti-FVIII antibodies is correlated to high-titre inhibitor, whereas IgG1 subclass is related to low-titre inhibitor in hemophilia A patients. We also observed a correlation of IgG4 positive reaction and high-titre of inhibitor. The presence of IgG4 anti-FVIII antibodies is related to Th2 immune response to FVIII, what can interfere in the success of immune tolerance induction (ITI) as previous reported. Therefore, the evaluation of IgG subclasses in patients with inhibitor may be useful alternative for monitoring the presence of inhibitor, and the decision of ITI treatment and outcome.

0271

O aquecimento prévio das amostras de plasma melhora a sensibilidade do teste Bethesda modificado para quantificação de inibidor em pacientes hemofílicos submetidos ao tratamento de imunotolerância

Montalvão SA, Tucunduva AC, Machado TF, Quaino SK, Ferraz BS, Garcia EP, Annichino-Bizzacchi JM, Paula EV, Ozelo MC

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: O método de Bethesda inicialmente descrito por Kasper em 1975 e posteriormente modificado por Verbruggen em 1995 é o teste padrão ouro para avaliação de anticorpo inibitório contra fator (F) VIII e FIX. O método apresenta algumas limitações, como a presença de fator no plasma a ser testado, proveniente de terapia de reposição ou fator endógeno residual, no caso de hemofilia moderada e leve. Alguns estudos mostram que o tratamento destas amostras com calor melhora a sensibilidade deste teste. Na terapia de indução de imunotolerância (ITI) o teste de quantificação de inibidor é fundamental para monitoramento do protocolo e decisão de conduta, desta forma, a avaliação desta aplicação técnica pode influenciar um resultado mais adequado. **Objetivo:** Comparar os Resultados da quantificação de inibidor em amostras de pacientes hemofílicos com inibidor, previamente tratadas e não tratadas com calor. **Métodos:** 89 quantificações de inibidor de 11 pacientes com hemofilia A grave e com história positiva para inibidor foram realizadas no período de 2009 a 2012. Amostras de 5 pacientes foram coletadas durante a realização de ITI. Os pacientes não submetidos à ITI foram avaliados quanto à infusão de concentrado de FVIII antes da data de coleta da amostra. Para cada análise as amostras de plasma foram coletadas, processadas igualmente e separadas em duas alíquotas. No momento da análise uma das alíquotas foi tratada com aquecimento a 56°C por 30 minutos e posteriormente centrifugada a 5000 rpm por 15 minutos. O protocolo, teste de Bethesda modificado, foi executado igualmente para as duas alíquotas. A avaliação estatística foi realizada através da avaliação de correlação r^2 (Spearmen test) e diferença entre os grupos pelo test t (Mann-Whitney). **Resultados:** Das 89 amostras analisadas, 21 amostras são do grupo não submetido à ITI (G-NITI) e 68 amostras do grupo submetido à ITI (G-ITI). Os Resultados da quantificação de inibidor provenientes das amostras tratadas com calor e não tratadas, quando comparados, apresentaram diferença significativa ($p < 0.0001$). Em 12 pacientes com Resultados de quantificação de inibidor negativos (< 0.6 UB/mL) nas amostras não tratadas, passaram a positivos na amostra tratada pelo aquecimento. Nestas amostras os grupos G-NITI e G-ITI apresentaram em média Resultados 3,4 e 6,8 vezes maiores quando comparado às amostras não tratadas, respectivamente. O grupo G-ITI foi analisado horizontalmente em todo o período de tratamento, quanto à média dos Resultados das amostras tratadas e não tratadas. A comparação destas amostras evidenciou uma diferença de 1,4 a 3,8 vezes superior na quantificação de inibidor das amostras tratadas. **Conclusão:** A presença de FVIII do paciente viola o princípio do teste de Bethesda, que a amostra do paciente e o controle devem ser equivalentes antes da incubação da amostra. Portanto, a presença adicional de FVIII (fonte exógena) pode alterar a cinética entre antígeno e anticorpo e prover um resultado menor que o esperado. Na prática diária do atendimento ao paciente, quando não for possível a espera de 72 horas sem infusão de produtos contendo FVIII para análise da quantificação de inibidor, este tratamento da amostra pode viabilizar a determinação do teste.

0272

Avaliação de desempenho de hemocentros brasileiros no programa de controle de qualidade externo NEQAS-UK no diagnóstico laboratorial das coagulopatias

Montalvão SA¹, Paula EV¹, Sternick GP², Ozelo MC¹, Bizzachi JM¹, Genovez G², Rezende SM²

¹ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP
² Coordenação da Política Nacional de Sangue e Hemoderivados, Ministério da Saúde, Brasília, DF

Introdução: A participação em programas de controle de qualidade externo (AEQ) é uma estratégia importante para melhorar a exatidão dos Resultados de um laboratório. O Brasil tem uma das maiores populações registradas de pacientes com hemofilia, e oferece atendimento uniforme, com a realização do diagnóstico através de

laboratórios públicos. As limitações no diagnóstico laboratorial da hemofilia no Brasil foram relatadas recentemente, desencadeando programas destinados a melhorar a precisão e exatidão dos Resultados. Neste contexto, todos os laboratórios de hemostasia da rede pública do Brasil foram convidados a participar em um programa de AEQ fornecido pela organização britânica NEQAS-UK. **Métodos:** Foram avaliados os últimos quatro anos de Resultados deste programa, que contemplou 10 participações (exercícios) dos laboratórios. O desempenho dos centros brasileiros foi comparado com os dos demais centros NEQAS-UK. As amostras foram distribuídas para os laboratórios durante o período de 2008-2011, e incluíram TP, TTPA, FVIII: C, FIX: C, FVW: Ag e FVW: RCof. O coeficiente de variação (CV%) entre os centros do Brasil e NEQAS-UK foram comparados para cada teste. Além disso, os Resultados de desempenho foram analisados cronologicamente em três momentos sequenciais. **Resultados:** 16 de 26 laboratórios convidados concordaram em participar. A mediana dos Resultados absolutos foi comparável aos dos participantes NEQAS. Um CV% semelhante foi também observado nos testes TP e TTPA em ambos os grupos. Em contraste, os centros brasileiros obtiveram um CV% muito maior em testes como FVIII: C, FIX: C, e DVW. Não foram observadas tendências de mudança de desempenho dos laboratórios participantes durante o período de quatro anos. **Conclusão:** Este programa nos permitiu obter uma avaliação com maior precisão sobre o diagnóstico laboratorial da hemofilia no Brasil. Embora os Resultados adequados tenham sido obtidos para os testes TP e TTPA, uma variabilidade (CV%) muito alta foram observados em outros testes, que ilustra os desafios do diagnóstico laboratorial no Brasil. O programa também estimulou a criação de uma rede de pessoas interessadas na melhoria do diagnóstico laboratorial, o compromisso das autoridades de saúde para apoiar esta rede e os seus projetos, com Simpósio anual para avaliação de Resultados provenientes do NEQAS-UK, além de uma colaboração para estabelecer um programa de educação contínua que inclui a realização de controles de qualidade externo brasileiro.

0273

Avaliação osteomusculoarticular em hemofilia no hemomina Juiz de Fora

Ferreira AA^{1,2}, Teixeira MT¹, Leite IC¹, Corrêa CS¹, Rodrigues DO^{1,2}, Cruz DT¹

¹ Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG
² Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemomina, Belo Horizonte, MG

Apresentação/Introdução: A hemofilia é uma doença potencialmente incapacitante, com desenvolvimento de artropatia precoce e progressiva, sobretudo em pacientes tratados sob o regime de demanda, ou seja, após a ocorrência de cada evento hemorrágico. A seqüela determinada pela limitação articular é um grave problema a ser enfrentado pela saúde pública. Dessa forma, medidas de reabilitação e Métodos que avaliem o estado clínico das articulações são essenciais para acompanhar a progressão da artropatia, estabelecer ou modificar protocolos de tratamento e analisar a eficácia de intervenções terapêuticas. **Objetivos:** Descrever as condições articulares estruturais e o grau de independência funcional de adultos portadores de hemofilia, e correlacionar os danos estruturais aos déficits funcionais encontrados nesses indivíduos. **Métodos:** Foi realizada avaliação clínica de danos articulares estruturais, conforme a escala de exame físico da Federação Mundial de Hemofilia (WFH-PE) e quanto a déficits funcionais, segundo o escore de Independência Funcional em Hemofilia (FISH) de portadores de hemofilia cadastrados no Hemomina Juiz de Fora, maiores de 18 anos, tratados sob regime de demanda. Análises de correlação foram conduzidas para avaliar a relação entre os escores dos dois instrumentos. **Resultados:** Foram avaliados

39 pacientes com média de idade de 36,85 anos. A presença de articulação-alvo foi detectada em 69,2% dos pacientes. As médias do WFH-PE e do FISH foram 16,87 e 25,64, respectivamente. Os portadores de hemofilia leve não apresentaram comprometimento articular significativo. Já os portadores de hemofilia moderada ou grave obtiveram Resultados semelhantes quanto a alterações articulares estruturais e déficits funcionais. O instrumento WFH-PE mostrou correlação estatisticamente significativa com a escala FISH. **Conclusões/Considerações:** Os instrumentos WFH-PE e FISH podem ser úteis para avaliação clínica articular estrutural e funcional de portadores de hemofilia, uma vez que são de fácil execução, baixo custo e detectam os principais danos causados pelas hemartroses de repetição, evidentes nessa população estudada. Portanto, trata-se de instrumentos que podem ser utilizados como ferramentas importantes para o manejo desses indivíduos e com forte potencial para atuar na prevenção de maiores danos e incapacidades.

0274

Qualidade de vida relacionada à saúde em hemofilia: versão Brasileira do HAEM-A-QoL

Ferreira AA^{1,2}, Rodrigues DO^{1,2}, Teixeira MT², Leite IC², Corrêa CS², Cruz DT²

¹ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG

² Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

Introdução: As pesquisas sobre Qualidade de Vida Relacionada à Saúde (QVRS) são fundamentadas na necessidade de que a Medicina não se limite a evitar a morte, mas valorizar a saúde. A QVRS pode ser influenciada por fatores como a doença, o tratamento, o modo como a pessoa lida com seu problema e o acesso ao cuidado. No caso da hemofilia, destacam-se as restrições a atividades físicas, a preocupação sobre hemorragias que ameaçam a vida, o desenvolvimento de artropatia, a necessidade de procedimentos ortopédicos e as complicações infecciosas ligadas a reposição de fatores de coagulação. A avaliação da QVRS pode ser realizada pelo Haem-A-QoL que é um questionário validado composto por 10 domínios que levam em conta o caráter multidimensional da qualidade de vida em hemofilia. Os **Objetivos** da aplicação desse instrumento são fornecer dados para pesquisas epidemiológicas e estudos de economia em saúde, avaliar potenciais benefícios de novas terapêuticas, assegurar qualidade do atendimento prestado e identificar opções de tratamento que possam beneficiar cada paciente individualmente. **Objetivos:** Mensurar a Qualidade de Vida Relacionada à Saúde em portadores de hemofilia, utilizando o questionário Haem-A-QoL. **Métodos:** Estudo observacional e transversal, em portadores de hemofilia congênita, do sexo masculino, maiores de 18 anos, sob tratamento de demanda, vinculado ao Hemominas de Juiz de Fora (MG). Dados clínicos e registros de alterações ortopédicas foram obtidos dos prontuários médicos. O instrumento Haem-A-QoL foi apresentado aos pacientes que preencheram o questionário e foram entrevistados sobre a compreensibilidade das questões. A pontuação alcançada em cada domínio e no escore total pode variar entre zero e 100, onde 100 corresponde à pior qualidade de vida. Para análise estatística foram utilizados os testes U de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. O nível de significância do estudo foi de 5%. Para determinar a consistência interna, foi utilizada análise de confiabilidade. O alvo para o alfa de Cronbach foi 0,7. Os dados foram analisados no *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), 15.0. **Resultados:** Foram avaliados 39 pacientes com média de idade de 36,8 anos (18 a 79); 33 eram portadores de hemofilia A; em oito casos (20,5%) a hemofilia foi classificada como leve, em 16 (41%) como moderada e em 15 (38,5%) como grave. Quatro participantes possuíam registros positivos para anti-HIV (10,5%) e 22 para

anti-HCV (57,9%). Uma ou mais articulações-alvo foram encontradas em 69,2% dos pacientes. A média do Haem-A-QoL foi 35,55. Os domínios mais prejudicados foram “Esportes e lazer” (média 49,8) e “Saúde física” (média 43,3) e o de menor comprometimento foi “Relacionamentos e sexualidade” (média 17,5). O coeficiente alfa de Cronbach foi 0,90. O Haem-A-QoL mostrou boa validade discriminante quanto a gravidade da hemofilia ($p = 0,001$), presença de anti-HIV ($p = 0,02$) e anti-HCV ($p = 0,01$) e presença de articulação-alvo ($p < 0,001$). **Conclusões:** A QVRS dos portadores de hemofilia foi influenciada pela presença de artropatia e pelas doenças infecciosas transmitidas por hemoderivados. A versão brasileira do Haem-A-QoL mostrou ser um instrumento confiável para mensurar QVRS, com boa validade discriminante, apresentou questões de fácil entendimento, constituindo em um instrumento útil para auxiliar no aprimoramento do tratamento de pacientes.

0275

Hemofilia: qualidade de vida relacionada à saúde

Ferreira AA^{1,2}, Corrêa CS², Teixeira MT², Leite IC², Cruz DT², Rodrigues DO^{1,2}

¹ Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG

² Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

Introdução: A hemofilia é um distúrbio hemorrágico com grande morbidade e potencialmente incapacitante, cujo tratamento com fatores de coagulação está associado a elevados custos financeiros. Os portadores dessa coagulopatia apresentam limitação motora devido ao desenvolvimento precoce de artropatia hemofílica. A avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde é uma ferramenta importante para o manejo desses pacientes. **Objetivos:** Mensurar a qualidade de vida relacionada à saúde em portadores de hemofilia e identificar fatores clínicos associados. **Métodos:** Estudo observacional e transversal, realizado com pacientes do sexo masculino, maiores de 18 anos e diagnóstico de hemofilia congênita, cujo tratamento de demanda estava vinculado ao Hemominas de Juiz de Fora (MG). Foi aplicado o Haem-A-QoL, questionário específico e validado para avaliar a qualidade de vida relacionada à saúde, e questionada a autoavaliação de saúde. Os dados clínicos, assim como registros de alterações ortopédicas estruturais e funcionais avaliadas através da Escala de Exame Físico da Federação Mundial de Hemofilia (WFH-PE) e do Escore de Independência Funcional em Hemofilia (FISH), respectivamente, foram obtidos dos prontuários médicos. Os dados foram analisados no *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), 15.0. O nível de significância do estudo foi de 5%. Na análise bivariada, foram utilizados os testes U de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. **Resultados:** 39 indivíduos com média de idade de 36,8 ($dp = 16,8$), sendo que 51,3% recebiam benefícios previdenciários por complicações da hemofilia. A média do Haem-A-QoL foi 35,55. Os domínios mais prejudicados foram “Esportes e lazer” e “Saúde física” e o de menor comprometimento foi “Relacionamentos e sexualidade”. A prevalência de artropatia foi alta (69,2%) e a realização de fisioterapia foi baixa (20,5%). A autoavaliação de saúde regular ou negativa associou-se de forma significativa a pior qualidade de vida, em 6 dos 10 domínios do Haem-A-QoL, e no escore total. Presença de danos articulares estruturais ou funcionais e história de artrocenteses inadvertidas também pioraram a HRQoL em domínios isolados e a presença de articulação-alvo associou-se ao escore total. **Conclusões/Considerações:** Quanto maiores os danos articulares estruturais e os prejuízos na independência funcional do indivíduo, pior a qualidade de vida. Acredita-se ser possível melhorar a qualidade de vida desses indivíduos a partir de investimentos na prevenção de lesões articulares e em medidas de reabilitação com base na perspectiva da integralidade do cuidado e universalização do conhecimento sobre a patologia.

0276

Fisioterapia e a busca pela independência funcional em portadores de hemofilia

Corrêa CS¹, Cruz DT¹, Ferreira AA^{1,2}, Leite IC¹, Teixeira MT¹, Rodrigues DO^{1,2}

¹ Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

² Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG

Introdução: A hemofilia é uma patologia potencialmente incapacitante pelas limitações articulares e o fisioterapeuta tem um importante papel terapêutico na recuperação desses pacientes. O desenvolvimento precoce de artropatia grave nos portadores de hemofilia em idade economicamente ativa, gera impactos socioeconômicos e onera significativamente o sistema de saúde. Os Métodos que avaliam a independência funcional desses pacientes são essenciais para acompanhar a progressão da artropatia, estabelecer ou modificar protocolos de tratamento, analisar a eficácia de intervenções terapêuticas e prover bases para investimentos econômicos para inclusão social. **Objetivos:** descrever o grau de independência funcional e a prática de tratamento fisioterapêutico de portadores de hemofilia. **Métodos:** estudo transversal realizado no Hemominas Juiz de Fora. Foram incluídos portadores de hemofilia, maiores de 18 anos que responderam ao questionário sobre a prática de tratamento fisioterapêutico nos últimos 12 meses e foram avaliados quanto a déficits funcionais, através do escore de Independência Funcional em Hemofilia (FISH). Foi utilizado o teste U de Mann-Whitney para comparação das médias do FISH conforme a gravidade da hemofilia. **Resultados:** 39 pacientes participaram do estudo; a média de idade foi de 36,85 anos; 87% dos portadores de hemofilia grave ou moderada apresentavam, no mínimo, o primeiro estágio de artropatia hemofílica, 69,2% apresentavam articulação-alvo; 79,5% não haviam recebido tratamento fisioterapêutico. Quanto ao motivo, 55,4% consideraram a abordagem desnecessária; 10,3% acreditavam que a fisioterapia poderia piorar os sintomas articulares e 10,3% disseram não ter acesso gratuito. A média do FISH foi de 25,64 (DP=6,09). Não houve diferença estatisticamente significativa entre portadores de hemofilia grave ou moderada quanto à média do FISH (16,4 e 15,7, $p=0,827$) e, sim, entre estes e os portadores de hemofilia leve (16,8 e 32,2, $p=0,001$). **Conclusões:** a prevalência de déficits funcionais foi alta e sua gravidade foi semelhante entre portadores de hemofilia moderada e grave, o que preconiza a necessidade de intervenção individualizada. O FISH conseguiu detectar os déficits funcionais, podendo ser útil para avaliação de portadores de hemofilia, uma vez que é de fácil execução e baixo custo. A fisioterapia, em geral, não é vista pelos pacientes como parte integrante do tratamento da coagulopatia, havendo, uma falta de informação dos pacientes sobre a importância da abordagem fisioterapêutica na prevenção e tratamento de lesões.

0277

Maior necessidade de reposição de FVIII em pacientes com hemofilia a moderada dos grupos sanguíneos não-O

Lima MD¹, Siqueira LH², Saraiva AS³, Montalvão SA², Machado TF², Trento T², Silva LS³, Filho ABO³, Lemos JA^{3,4}, Ozelo MC²

¹ Laboratório de Hemostasia, Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Caruaru, PE

² Laboratório de Hemostasia, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

³ Laboratório de Biologia Molecular, Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – Hemopa, Belém, PA

⁴ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará – UFPA, Belém, PA

A hemofilia A é uma desordem hemorrágica de expressividade variável causada por mutações no gene do FVIII (FVIII) da coagulação sanguínea, localizado no braço longo do cromossomo X (Xq28). No Brasil, o tratamento de pacientes com hemofilia A consiste na terapia de reposição com concentrado de FVIII derivado de plasma humano, o qual pode ser administrado para controle de um episódio hemorrágico (sob demanda) ou profilaticamente com o objetivo de prevenir sangramentos e consequentes sequelas como as artropatias. Estudos recentes demonstraram que, após a infusão de concentrados de FVIII, em pacientes hemofílicos A graves do grupo O, a meia-vida do FVIII é mais curta do que aqueles dos grupos não-O. Uma provável justificativa seria a maior concentração do fator de von Willebrand (FVW) plasmático em indivíduos do tipo sanguíneo não-O. Neste estudo foi investigada a associação entre o grupo sanguíneo O e o consumo anual de concentrados de FVIII (UI/Kg/ano) nos últimos 3 anos em 99 pacientes hemofílicos A, sendo 68 leves e 31 moderados, atendidos no Hemocentro do Pará e Hemocentro da UNICAMP e tratados em sua maioria sob demanda. As determinações dos níveis antigênicos do fator de von Willebrand (FVW: Ag), da atividade do cofator de ristocetina (FVW: RiCof) e atividade coagulante do FVIII (FVIII: C) foram realizadas com o objetivo de verificar a correlação entre essas variáveis e os imunofenótipos do sistema ABO. A comparação do consumo de FVIII (UI/Kg/ano) entre os hemofílicos O e não-O através do teste Mann-Whitney (admitindo o nível de significância $p<0,05$) mostrou neste estudo, ao contrário do esperado, que os hemofílicos A moderados do grupo sanguíneo não O apresentaram um consumo significativamente maior de concentrado de FVIII ($p=0,017$). Na avaliação deste grupo de pacientes com hemofilia A moderada os níveis plasmáticos de FVW: RiCof foi estatisticamente superior nos pacientes não-O quando comparado aos pacientes do grupo sanguíneo O ($p=0,045$). A avaliação dos pacientes com hemofilia A leve não evidenciou diferença significativa no consumo de FVIII entre os grupos sanguíneos. Nós concluímos que o maior nível plasmático de FVW: RiCof nos pacientes hemofílicos moderados do grupo não-O, que poderia influenciar através do aumento da meia-vida de FVIII, não foram suficientes para impedir a necessidade maior de reposição de FVIII e, portanto, a frequência do sangramento neste grupo. Sugerimos a hipótese de que outras variáveis, tais como as mutações da hemofilia A moderada, estariam influenciando a estabilidade da molécula do FVIII (a qual possui determinantes antigênicos A e B em indivíduos dos grupos não-O) e que estudos adicionais com uma população maior sejam realizados para corroborar os Resultados do presente estudo.

0278

Incidência de trombostenia de Glanzmann nos pacientes atendidos no laboratório de diagnóstico do hemocentro coordenador da Fundação HEMOBA

Araújo LC, Streva AS, Monteiro MB, Brito MC, Goncalves-Santos NJ, Ferreira AS, Fernandez GS, Sales EM, Neto MM

Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia – HEMOBA, Salvador, BA

Introdução: A Trombastenia de Glanzmann é uma trombocitopenia autossômica recessiva, rara de um modo geral, mas muito comum em casamentos entre consangüíneos. É caracterizada pela mutação dos genes que codificam as glicoproteínas IIb e/ou IIIa o que impede a ligação das plaquetas ao fibrinogênio, proteína vital à agregação plaquetária. Manifestações como púrpura, equimoses, menorragias, epistaxes e gengivorragias são presentes nos pacientes homocigotos, já os heterocigotos são assintomáticos. As provas laboratoriais como as de identificação dos fatores de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada) e o hemograma são normais, inclusive a contagem global de plaquetas. Para elucidação do diagnóstico, outras provas são essenciais: a agregação plaquetária, que geralmente

é ausente em resposta aos agentes agregantes mais comumente empregados (adenosina difosfato – ADP, colágeno – COL, ácido araquidônico – AA, epinefrina – EPI.) e normal ou hipoagregante frente à ristocetina; a retração do coágulo que pode estar reduzida ou ausente e o tempo de sangramento que pode estar aumentado. **Objetivo:** Avaliar a incidência da Trombastenia de Glanzmann através dos Resultados das curvas de agregação plaquetária realizadas nos pacientes atendidos no ambulatório do Hemocentro Coordenador da Fundação HEMOBA. **Métodos:** Levantamento de dados das curvas de agregação plaquetária realizadas no Laboratório de Diagnóstico da Fundação HEMOBA no período de janeiro de 2010 até o final do primeiro semestre de 2012. **Resultados:** No ano de 2010 foram realizados cinquenta e oito testes de agregação plaquetária, em 2011 cento e trinta e oito e no 1º semestre de 2012 duzentos e setenta e sete, totalizando quatrocentos e setenta e três testes realizados. Destes foram diagnosticados quatro pacientes portadores da doença, sendo dois em 2010 e dois em 2012. **Conclusão:** Os Resultados obtidos demonstraram que aproximadamente 0,85% dos pacientes submetidos ao teste de agregação plaquetária no Laboratório de Diagnóstico da Fundação HEMOBA foram diagnosticados com Trombastenia de Glanzmann.

0279

Importance of literacy for self-reported health-related quality of life: a study of boys with haemophilia in Brazil

Cassis FR¹, Carneiro JD¹, Villaca PR¹, Damico EA¹, Santos VN¹, Roy-Charland A², Burke T², Blanchette V³, Brandão LR³, Young NL²

¹ Universidade de São Paulo – USP, SP

² Laurentian University, Ontario, Canada

³ University of Toronto, Ontario, Canada

Introduction: Psychosocial outcomes are important in the perspective of boys with haemophilia. However, health-related quality of life (HRQoL) is based on self-report, and assumes adequate literacy. Yet literacy is rarely assessed prior to data collection. **Objective:** This paper sought to identify criteria that might indicate the level of literacy of children being recruited to clinical trials and to develop a simple method to pre-screen those whose literacy was uncertain. **Methods:** We developed a brief screening tool in the form of 2 stories, at a grade 3 reading level, followed by comprehension questions. We applied the screening test to a sample of hemophilic boys between the ages of 7 and 13 years, to assess their literacy. The data were analysed to determine the best criteria to use in identifying the ability to independently self-report for HRQoL studies. **Results:** Twenty-four Brazilian boys (7.9 to 12.8) completed the testing. The results showed that 17 (70.8%) were literate (were able to both read and comprehend), and could complete a questionnaire without assistance. All boys over 11.0 years of age were sufficiently literate. Grade level was not found to be a helpful criterion. **Conclusion:** We recommend that all children under the age of 11.0 years be pre-screened before providing self-reported HRQoL data. Those with limited literacy should be provided assistance to ensure comprehension of the questions. This is important to ensure high quality data on HRQoL for future clinical trials.

0280

Hemofilia: características de uma população de pacientes

Camacho EC, Ferraz RA, Novo NF, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

A hemofilia é uma doença genética autossômica ligada ao cromossomo X, caracterizada pela deficiência dos fatores de coagulação, o que leva a hemorragias frequentes. É classificada em hemofilia A, na qual há deficiência de Fator VIII, e hemofilia B, com deficiência de Fator IX. De acordo com os níveis de fator, é considerada leve naqueles pacientes com mais de 5%, moderada com níveis de 1% a 5% e grave abaixo de 1%. As manifestações clínicas variam de acordo com o nível de gravidade da doença, sendo observadas desde hemorragias sem trauma aparente a sangramentos infrequentes decorrentes de cirurgias ou traumatismos graves. A complicação mais importante é a artrite dolorosa e incapacitante ocasionada pelas constantes hemartroses, principalmente em articulações que sustentam peso. O tratamento da hemofilia é realizado com infusão de concentrado do fator deficiente, sendo que até meados de 1980, quando a triagem sanguínea para anticorpos anti-HIV não era realizada e o fator era administrado por plasma fresco, muitos hemofílicos foram contaminados com HIV e outras doenças infecciosas. No presente estudo, foram avaliados quanto às suas características clínicas e laboratoriais os pacientes em acompanhamento no Centro de Hemofilia do Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), que atende os pacientes hemofílicos cadastrados de Sorocaba e região. Por meio da análise retrospectiva dos prontuários dos pacientes cadastrados no Centro de Hemofilia do Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), os pacientes portadores de hemofilia foram avaliados quanto às suas características clínicas, laboratoriais e terapêuticas, além das complicações. As análises estatísticas foram feitas pelo teste de Kruskal-Wallis, utilizando-se o software BioStat 5.0. Foram analisados 90 pacientes, todos do sexo masculino. Desses, 61 (67,88%) eram portadores de hemofilia grave, 20 (22,22%) moderada e 9 (10%) hemofilia leve. Oitenta (88,88%) possuíam hemofilia A e dez (11,11%) possuíam hemofilia B. A média aritmética das idades desses pacientes foi de 23,03 anos, com desvio padrão de 13,84. Quatro pacientes (4,44%) possuíam inibidor contra o fator VIII. Dezesesseis pacientes (17,77%) tiveram sorologia positiva para HCV, cinco (5,55%) para HBV, três (3,33%) para HIV e dois (2,22%) para HTLV. A quantidade de hemorragias/ano em todos os principais locais de sangramento foi significativamente maior nos pacientes com hemofilia grave e moderada quando comparados aos pacientes com hemofilia leve ($p < 0.0001$). A quantidade total de hemorragias nos pacientes portadores de hemofilia A foi significativamente maior que nos portadores de hemofilia B ($p < 0.0001$). O local de hemorragia mais prevalente foi o joelho (44%), seguido, em ordem decrescente, de cotovelo (19%), tornozelo (16%), boca (7%), ombro (6%), quadril (4%), nariz (3%) e punho (1%). O Número de hemorragias/ano em joelho, cotovelo e tornozelo foi significativamente maior que em ombro, punho, quadril e nariz ($p < 0.05$). Nossos Resultados foram concordantes com os da literatura no que diz respeito à distribuição por sexo, porcentagem de pacientes com doença grave, média de idade, idade de diagnóstico e frequência de hemartroses. No entanto, tivemos mais pacientes com Hemofilia A em relação aos portadores de Hemofilia B que o encontrado em outros trabalhos, além de maior porcentagem de pacientes com irmãos hemofílicos e menor número de portadores de inibidor de Fator VIII.

0281

Litotripsia extracorpórea em paciente com deficiência congênita de fator VII associada à doença de von Willebrand

Okazaki E¹, Valim AK¹, Villaca PR¹, Rocha TR¹, Sandoval EP¹, Kato RB², Neto EA², Mazzucchi E², Chamone DA¹, D'amico EA¹

¹ Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, SP

² Departamento de Urologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, SP

Introdução: A deficiência congênita de fator VII é uma coagulopatia rara, de herança autossômica recessiva, com prevalência de aproximadamente 1: 500.000. A doença de von Willebrand é o distúrbio hemorrágico hereditário mais comum, com incidência de 1% e uma das mais frequentes causas de sangramento a ser investigada em mulheres com menorragia. Importante complicação da litotripsia extracorpórea por ondas de choque (LECO) é o sangramento peri ou intra renal, descrito em até 20% a 25% dos casos. A seguir, relatamos a abordagem de uma paciente com a associação dessas duas coagulopatias que foi submetida a LECO. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, 30 anos, portadora de doença de von Willebrand e deficiência congênita de fator VII, apresentava nefrolitíase sintomática. Suas manifestações clínicas incluíam: gengivorragia, menarca com sangramento excessivo e necessidade transfusional, hemorragia vaginal tardia pós-segundo parto e outros episódios de metrorragia associados à miomatose uterina, controlados posteriormente com terapia hormonal. Dados laboratoriais relevantes: TP AP=19%, TTPA R=1,38, TTPA 50% R=1,10, TT=15s, FVII=3%, FvW: Ag=38%, FvW: RCo=20%, RIPA=normoagregante, FVIII=41%. Teste do DDAVP com boa resposta. Ultrassonografia de rins: cálculo em pelve renal direita de 1,2cm, sem dilatação de vias urinárias. A paciente recebeu rFVIIa 20mcg/kg no pré-LECO associado a DDAVP 0,3mcg/kg; o rFVIIa foi mantido, na mesma dose, 4/4h por 24h, e 6/6h nos segundo e terceiro dias (60h seguintes); uma dose diária de DDAVP (0,3 mcg/kg) foi mantida por 2 dias. A suspensão do rFVIIa foi guiada por dosagem do FVII, que no 3º pós LECO era de 135%. Evoluiu com hematúria leve por 4 dias, conforme o esperado nesses procedimentos, e lombalgia com necessidade de analgesia comum por 3 dias. A ultrassonografia de controle 1 mês após a LECO não evidenciou cálculos, com a paciente assintomática. **Discussão:** a literatura médica é escassa quanto a LECO em pacientes com coagulopatias, visto que este procedimento é contraindicado na presença de distúrbios hemorrágicos não corrigidos. Os poucos trabalhos existentes abordam indivíduos com hemofilia e doença de von Willebrand, mas não há nenhum relato em pacientes com deficiência congênita de fator VII isolada e/ou associada à outra coagulopatia. No caso em questão, a melhor opção de tratamento da nefrolitíase foi a LECO, cuja taxa de erradicação do cálculo descrita é de 66 a 99%. Além disso, a nefrolitotomia percutânea acrescentaria riscos maiores de complicações. Sabe-se que o nível de fator VII não é bom preditor de sangramento nas deficiências de fator VII, devendo-se considerar a história hemorrágica prévia. A despeito da história hemorrágica de nossa paciente, que poderia gerar algumas dúvidas, os níveis de fator VII muito baixos e o procedimento com potencial de sangramento grande justificam o uso profilático do rFVIIa, podendo-se questionar se as doses e o tempo de administração do fator poderiam ser menores. **Conclusão:** trata-se do primeiro relato de paciente com deficiência de fator VII e doença de von Willebrand submetida a litotripsia extracorpórea, cujo manejo com DDAVP e rFVIIa resultou em boa evolução clínica, com ausência de hemorragias anormais.

0282

Process and experience of cross-cultural adaptation of a quality of life measure (CHO-KLAT) for boys with hemophilia in Brazil

Villaca PR¹, Carneiro JD¹, D'amico E¹, Blanchette V², Brandão LR², Cassis FR¹, Santos VN¹, Sandoval EP¹, Burke TA³, Young NL³

¹ Universidade de São Paulo – USP, SP

² University of Toronto, Ontario, Canada

³ Laurentian University, Ontario, Canada

Background: Health related quality of life (HRQoL) is an important outcome from the perspective of boys with hemophilia and their parents. Few studies have captured the HRQoL of boys with hemophi-

lia in developing countries. This paper reports on the cross-cultural adaptation of the Canadian Hemophilia Outcomes – Kids Life Assessment Tool (CHO-KLAT) for use in São Paulo, Brazil. **Methods:** The CHO-KLAT_{2.0} was translated into Portuguese, then translated back to English. The original English and back-translation versions were compared by a group of 3 clinicians, whose first language was Portuguese. The resulting Portuguese version was assessed through a series of cognitive debriefing interviews with children and their parents. This process identified concepts that were unclear and revised items to ensure appropriate understanding through an iterative process. **Results:** The initial back-translation was not discrepant from the original English version. We made changes to 66% of the CHO-KLAT_{2.0} items based on clinical expert review and 26% of the items based on cognitive debriefings. In addition, 2 new items were added to the final Portuguese version to reflect the local cultural context. The final result had good face validity. **Discussion:** This process was found to be extremely valuable in ensuring the items were accurately interpreted by the boys/parents in São Paulo Brazil. The results suggest that professional translators, clinical experts and cognitive debriefing are all required to achieve a culturally appropriate instrument. **Conclusion:** The Portuguese CHO-KLAT_{2.0} is well understood by São Paulo boys/parents. The next steps will be to test its validity and reliability locally.

0283

Experience on the management of malignancy in hemophilia patients

Villaca PR, Okazaki E, Valim AK, Sandoval EP, Carneiro JD, Junqueira PL, Chamone DA, D'amico EA

Universidade de São Paulo – USP, SP

Cancer has been increasingly recognized in people with hemophilia (PWH) mainly due to their improved life expectancy. We describe five cases of cancer in PWH, focusing in their management and adverse events during cancer treatment. All patients followed at a national reference Hemophilia and Cancer treatment Centre were evaluated, from August 2009 to December 2011. There were 3 hemophilia B (patients 1, 2 and 5) and 2 hemophilia A patients (patients 3 and 4). The types of malignancy were medulloblastoma, adenocarcinoma of colon, Ewing sarcoma, liposarcoma (thigh) and nasopharyngeal carcinoma. Treatment included surgery (patients 1, 3, 4 and 5), chemotherapy (patients 1, 2, 3 and 5) and radiotherapy (patients 1 and 4). Bleeding was the first symptom of cancer in patients 2, 4 and 5. Patient 2 presented hematuria since the admission related to urinary bladder metastasis associated with severe refractory thrombocytopenia. All patients received factor replacement during cancer treatment, invasive and surgical procedures. There was no hemorrhagic complication. Patient 4 received antithrombotic prophylaxis after surgery, due to associated obesity. One patient (20%) died because of disease progression, one (20%) is still receiving chemotherapy and three (60%) are in remission. Overall the prevalence of most cancers in the non-infected PWH seems to be similar to that of age matched controls. The management of such patients represents a new challenge for physicians working in hemophilia centers. Bleeding episode may reveal an underlying oncologic disorder. On the other hand, it should be taken in account the hemophilia-associated increased bleeding risk, mainly during chemotherapy (xCT), radiotherapy (xRT) program or a diagnostic invasive procedure. Diagnosis of hemophilia should not preclude the adequate cancer treatment. Prospective trials are warranted to optimize the management of hemophiliacs with cancer.

em cotovelos; 211 (17%) em joelhos e 41 (3%) em ombros. **Comentários:** A avaliação desta população pediátrica demonstrou que as hemartroses da articulação dos tornozelos foram as mais frequentes, representando 46% das hemartroses do período de estudo seguida dos cotovelos, com 34%. Este resultado difere dos dados normalmente referidos na literatura, onde a articulação dos joelhos é mais acometida. As alterações articulares são mais facilmente percebidas em joelhos que nos tornozelos, devido às características anatômicas das mesmas e tal fato poderia explicar a diferença de acometimento encontrada. Não surpreende que os ombros tenham sido a articulação com menor frequência de episódios hemorrágicos, apenas 3% do total, dado concordante com os estudos pregressos. O tratamento da hemofilia mudou radicalmente durante as últimas duas décadas em nosso meio e, com a recente introdução da profilaxia primária, este cenário deverá ser diferente em futuro próximo.

0287

Perfil dos sangramentos de uma população hemofílica pediátrica e correlação com índice de massa corpórea

Pinto CM, Vallin S

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Introdução: Pessoas com hemofilia (PCH) estão expostas a episódios de sangramentos predominantemente articulares. Assim como a população geral, PCH tem apresentado ganho ponderal e aumento do índice de massa corpórea (IMC). Essa mudança clínica pode mudar a evolução dos pacientes que enfrentariam maior sobrecarga articular. **Objetivo:** avaliar se o aumento de IMC interfere na frequência dos episódios de sangramento em um grupo de pacientes pediátricos com hemofilia. **Métodos:** Pacientes com hemofilia A grave que nasceram entre 2000 e 2005, hoje com idades entre 7 e 12 anos foram estudados. Foi realizado estudo retrospectivo dos prontuários para verificar episódios de sangramento no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2011 além de avaliação pondero-estatural e exames sugestivos de doença metabólica. Os critérios de exclusão foram: presença de inibidor, profilaxia primária ou secundária em andamento e doenças associadas. **Resultados:** Do total de 13 indivíduos, foram avaliados nove que preencheram os critérios de inclusão, com mediana de 9 anos. As crianças excluídas do estudo apresentavam inibidor (1); anemia falciforme (1) ou uso de profilaxia (2). O IMC variou de 13 a 28,8, mediana de 20,2, sendo que 4 (44,4%) apresentavam sobrepeso (Grupo 1 – G1: IMC superior a 24) e 5 (55,6%) IMC normal (Grupo 2 – G2); nenhuma criança apresentou doença metabólica associada. Quanto aos episódios hemorrágicos por paciente, variaram de 45 a 101 no G1 e de 16 a 67 no G2. As hemartroses de tornozelos representaram 118 episódios hemorrágicos no G1, comparados a 24 no G2, enquanto os sangramentos pós trauma foram 46 no G1 e 45 no G2. Em 3 crianças sangramento pós trauma foi o fator causal mais frequente e apenas uma (11,1%) não apresentou sangramento pós trauma no período estudado. Foi introduzida profilaxia secundária em 6 (66,6%) crianças por terem articulação alvo caracterizada. **Comentários:** Os sangramentos pós traumáticos foram comuns em ambos os grupos, devido ao alto nível de atividade física das crianças nesta faixa etária. Os sangramentos de maior prevalência no G1 foram as hemartroses de tornozelos. Apesar da elevada frequência de hemartroses de tornozelos observada nesta população, o sobrepeso também pode ser causa de dano articular, predispondo este grupo a alterações articulares precoces e de maior gravidade.

0288

Avaliação de coagulopatias hereditárias no Serviço de Hematologia do Hemocentro Regional de Uberaba

Ferreira A¹, Martins PR^{1,2}, Silva PA^{1,2}, Apolinário LA^{1,2}, Soares S^{1,2}, Martins RA^{1,2}

¹ Hemocentro Regional de Uberaba, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Uberaba, MG
² Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG

Introdução: Apesar dos avanços no tratamento e aprimoramento dos procedimentos de diagnóstico e programas de notificação das coagulopatias hereditárias, existe uma carência muito grande de informações que revelem as particularidades das diferentes regiões de nosso país. **Objetivo:** caracterizar o perfil epidemiológico e demográfico dos pacientes com coagulopatias hereditárias atendidos no Hemocentro Regional de Uberaba (HRU). **Métodos:** Estudo de caráter retrospectivo, descritivo e quantitativo com utilização de dados secundários dos prontuários de pacientes com diagnóstico confirmado de hemofilia ou DvW registrados de janeiro de 1997 a dezembro de 2006 pelo Ambulatório do HRU. Levantaram-se dados demográficos e referentes a intercorrências, complicações da doença, tipo de tratamento e quantidade de fatores administrados. **Resultados:** Foram registrados 58 pacientes, sendo 39 (67%) com diagnóstico de Hemofilia A; sete (12%), Hemofilia B e 12 (21%), Doença de von Willebrand (DvW). Quanto à gravidade das hemofilias, 16 pacientes (34,79%) apresentavam grau leve, 14 (30,43%), moderado; 14 (30,43%), grave e em dois casos (4,35%) a gravidade não foi informada. Todos os hemofílicos eram masculinos e, dos pacientes com DvW, oito (66,7%) eram femininos e quatro (33,3%) masculinos. A média geral da idade dos pacientes foi de 23 anos (DP ±14,85), variando de um mês a 57 anos. A idade média dos pacientes com Hemofilia A foi de 22,78 anos (DP ±13,52); Hemofilia B, 10,3 anos (DP ±8,36) e DvW 31,17 anos (DP ±17,26). A maior prevalência de coagulopatia hereditária ocorreu na faixa dos 10 a 19 anos com 18 pacientes (31%). Dentre os 14 hemofílicos graves, o tempo médio de tratamento foi de 8,2 anos variando de 2 a 11 anos; dos 14 moderados, 6,0 anos variando de um mês a 11 anos; dos leves, 7,6 anos variando de seis meses a 19 anos. Dentre os pacientes com DvW, a média foi de 4,7 anos variando de quatro meses a 11 anos. Apenas um paciente hemofílico A grave (2,17%) apresentou anticorpo inibidor sendo que em sete casos (15,22%) não foi informado sobre a realização do teste. O número de pacientes foi crescente ao longo dos anos, a média de intercorrências por paciente por ano foi de 8,81 e a proporção de pacientes com intercorrências variou de 66,67% em 2006 a 82,14% em 1998. Em 31,8% dos casos não houve especificação do tipo de intercorrência, as hemartroses foram as mais descritas (29,9%) e as localizações mais referidas foram em membros superiores e inferiores foram joelho (19,7%). No total, 23 pacientes apresentavam sorologia positiva (39,7%). A maior parte dos pacientes recebeu tratamento ambulatorial e a frequência mínima foi de 61,4% dos pacientes no ano de 2006 e a máxima de 76,92% em 2003. A mediana de UI de fator por paciente por ano foi crescente de 1997 a 2001 e decrescente a partir de 2002. **Discussão e Conclusão:** O levantamento de dados regionais é importante para a caracterização das particularidades encontradas que não são demonstradas por estudos de âmbito nacional. Tais informações colaboram para o desenvolvimento de estratégias que direcionem as condutas referentes à manutenção e aprimoramento dos cuidados disponibilizados aos pacientes.

0289

Compartilhando experiências: uma ferramenta efetiva para o melhor tratamento da hemofilia

Pinto CM, Chaves EM, Raposo RN, Lima EO, Vrabic AC, Vallin S

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Introdução: O tratamento multiprofissional é a base do tratamento da hemofilia. No entanto, é indispensável que o paciente tenha conhecimento da doença, sua evolução e como conviver com sua condição clínica. O bom resultado do tratamento baseia-se no tripé: ações da equipe multidisciplinar, atitudes do paciente bem como o apoio dos familiares. Os Centros de Tratamento da Hemofilia (CTH) são responsáveis tanto pela disseminação contínua dos conhecimentos adquiridos como pela aplicação destes no auto-cuidado. Apesar das orientações dispensadas durante as visitas ao CTH, foi observada dificuldade na execução das ações necessárias ao bom andamento do tratamento. **Objetivo:** Criação de espaço para Discussão de assuntos pertinentes ao tratamento e desenvolvimento do entendimento da condição clínica de pacientes e familiares, através do compartilhar experiências. **Métodos:** Anualmente nosso CTH realiza encontro com pacientes e familiares, onde a equipe aborda temas/ conceitos de relevância para que o auto-cuidado seja bem conduzido. Diferente de anos anteriores, durante o ano de 2011 os encontros foram estratificados de acordo com as diferentes necessidades. Pacientes e familiares foram convidados a participar voluntariamente através de cartazes no CTH e por contato telefônico. O Grupo I (GI) foi formado por adolescentes e o Grupo II (GII) por pais de crianças. Em ambos os encontros foram planejadas atividades interativas para incentivar a participação dos presentes, seguida por exposição de dúvidas, medos e ansiedades de cada um. A equipe conduziu discussões gerais, introduzindo e reforçando conceitos, além de responder às dúvidas levantadas. **Resultados:** No GI compareceram 9 adolescentes entre 12 e 18 anos. No GII participaram 15 pais de 11 crianças com idades entre 1 a 9 anos. Os adolescentes (GI) mostraram-se preocupados com sua inserção social, como o medo de expor sua condição de hemofílico e insegurança quanto ao emprego e futuro. Os pais (GII) expuseram questões relacionadas a escola e desenvolvimento infantil, além da preocupação com o futuro de seus filhos com temas como empregabilidade e formação de famílias. Todos os participantes tiveram oportunidade de ouvir e serem ouvidos, o que os auxiliou no esclarecimento de dúvidas bem como na diminuição da ansiedade. A equipe teve a oportunidade de reforçar importantes conceitos como a precocidade do tratamento, a importância da divulgação da doença na comunidade geral visando diminuir o preconceito e o absenteísmo, bem como estimular a escolaridade. **Comentários:** A troca de experiências traz maior confiança e um dos aspectos mais importantes foi a percepção de que “não estão sozinhos”. O compartilhar experiências os fortaleceu e abriu novos horizontes que os auxiliarão no caminho do crescimento.

0290

Isolamento e caracterização de uma terceira isoforma do fator VII de coagulação sanguínea humanaFreitas MC^{1,2}, Bomfim AS^{1,3}, Russo-Carbolante EM^{1,3}, Castro VP¹, Swiech K^{1,3}, Covas DT^{1,2}¹ Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP² Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP³ Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - FCFRP, Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP

O fator VII de coagulação sanguínea tem sido amplamente utilizado no tratamento de várias desordens sanguíneas incluindo o tratamento de pacientes portadores das hemofilias A e B que desenvolveram anticorpos inibitórios ao tratamento com os fatores VIII e IX, respectivamente. O fator VII é uma proteína produzida pelo fígado e seu gene é capaz de transcreever quatro isoformas diferentes devido ao processo de splicing alternativo do mRNA. Dentre essas isoformas, as variantes 01 e 02 codificam um peptídeo maduro idêntico, sendo que a principal diferença entre elas é a ausência do éxon 1b na variante 02, o que gera um peptídeo sinal de menor tamanho. Contudo, pouco se sabe a respeito das isoformas 03 e 04 do fator VII. Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi isolar e caracterizar a variante 03 do gene do FVII. Para tanto foi realizada a extração de RNA total da linhagem celular HepG2 e posterior síntese de cDNA. O isolamento da isoforma 03 do gene do FVII foi realizado por PCR. O fragmento foi inicialmente subclonado no vetor pGEM T-Easy e sequenciado. O sequenciamento mostrou que a variante 03 do FVII não possui 3 exons consecutivos na região 5', sendo eles os exons 1b (66 pb), 2 (161 pb) e 3 (25 pb), gerando um peptídeo maduro com 252 pb a menos que a variante 01. Confirmada a identidade do fragmento, esse foi clonado no vetor de expressão lentiviral 1054-CIGWS-GFP. Células 293T foram cultivadas em garrafas estáticas, em meio DMEM 10% SFB, e transfectadas com o vetor 1054-FVII. A eficiência da transfecção foi observada pela análise do GFP em citometria de fluxo e mostrou que 49% das células 293T estavam expressando o GFP. Após 48h foram realizadas análises relativas à expressão e atividade biológica do FVII. Após a modificação das linhagens celulares, em relação à expressão gênica, foi possível observar a presença do mRNA relativo ao gene do fator VII nas células modificadas e a ausência do mesmo nas células não transfectadas. Contudo, ao analisar o sobrenadante das células 293T-FVII pelo teste de atividade biológica TTP, não foi possível observar atividade biológica da variante 03 do FVII. Em conjunto, os dados mostram que apesar de ser expressa, essa variante não possui atividade biológica, e uma das causas pode ser a perda dos 3 exons consecutivos, observada com a análise do sequenciamento. Estudos posteriores relacionados à tradução da proteína são necessários para uma melhor compreensão dos Resultados apresentados.

0291

Prevalência de menorragia e de histerectomias reportadas em prontuários de mulheres com doença de Von Willebrand, assistidas entre 1985 e 2009, no hemocentro do Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação HemominasLopes MS¹, Brener S¹, Barbosa GN¹, Salomon T¹, Velloso-Rodrigues C²¹ Serviço de Pesquisa, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Belo Horizonte, MG² Serviço de Pesquisa, - Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Juiz de Fora, MG e Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

A Doença de Von Willebrand (DVW) é uma coagulopatia hereditária de caráter autossômico, atingindo 0,8 a 2% da população geral, e é causada por mutação no gene do Fator de Von Willebrand (FVW). Fatores moduladores contribuem para os diferentes fenótipos com intensidades variáveis de manifestações clínicas hemorrágicas. A DVW é classificada em subtipos: 1 e 3 se houver um defeito quantitativo parcial ou total do FVW respectivamente; e subtipo 2 existindo deficiência qualitativa do FVW. O FVW é importante para a homeostase durante a menstruação, no parto e no puerpério. As mulheres com DVW são mais vulneráveis à anemia crônica ferropriva, endometriose, sangramentos por doenças benignas como miomas, hiperplasia do endométrio, pólipos e cistos ovarianos hemorrágicos

falo típica e a biópsia de pele devem ser realizadas para fins diagnósticos. Contudo, análise genética é atualmente o melhor método diagnóstico. Apesar dos relatos de casos realizados por pesquisadores de outros países, o conhecimento desta patologia em nosso país é limitado devido às variedades fenotípicas que ela apresenta.

0294

Determinação de onze novas mutações no gene do fator IX em pacientes com diagnóstico de hemofilia B

Trento TH¹, Siqueira LH¹, Santos AD¹, Veiga M², Thomas S³, Fujimoto D⁴, Strevia A⁵, Prezotti A⁶, Ozelo MC¹

¹ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

² Hemocentro do Paraná, Curitiba, PR

³ Hemocentro do Mato Grosso, Cuiabá, MT

⁴ Hemocentro do Acre, Rio Branco, AC

⁵ Hemocentro da Bahia, Salvador, BA

⁶ Hemocentro do Espírito Santo, Vitória, ES

Introdução: A hemofilia B (HB) é uma doença hemorrágica hereditária resultante da deficiência congênita da proteína fator (F) IX da coagulação. O gene do FIX está localizado na região 27 do braço longo do cromossomo X (Xq27) e é composto por 8 éxons e 7 íntrons que compreendem aproximadamente 33,5kb e origina um RNAm com 2,2kb. Desde a clonagem do gene do FIX em 1982 mais de mil mutações foram descritas. **Objetivo:** Este trabalho teve por objetivo determinar a genotipagem de pacientes com diagnóstico de HB e correlacionar com a gravidade da doença e avaliar as mutações mais recorrentes em nossa população. **Métodos:** Foram convidados a participar deste estudo pacientes com diagnóstico de HB provenientes de centros distintos de várias regiões do Brasil. Amostras de DNA extraído de *pool* leucocitário foram amplificadas por reação em cadeia da polimerase (PCR) e posteriormente realizou-se sequenciamento direto das amostras em sequenciador automático. As sequências foram analisadas utilizando a referência NCBI RefSeq NM_000133.3. **Resultados:** Este estudo incluiu 128 pacientes com HB, pertencentes a 74 famílias distintas, sendo que 60 pacientes (38 famílias) apresentavam o diagnóstico compatível com HB grave. Foram identificadas 57 mutações distintas no gene do FIX, sendo 11 mutações não descritas anteriormente. Dentre as mutações novas, foram observadas 2 mutações nonsense, p.G133Stop e p.S138Stop e as mutações de ponto, p.R-4T, p.R116P, p.P194L, p.H221N, p.V231F, p.F321P, p.L326R, p.D359H e p.I382N. Entre as mutações mais observadas nesta população, destacam-se dois códons no éxon 8 reconhecidos como hotspots no gene do FIX (p.R248 e p.R333). A mutação p.R248Q (30864 G>A) foi encontrada em 6 famílias não relacionadas, com o diagnóstico de HB moderada e p.R248Stop (30863 C>T) estava presente em 3 famílias com HB grave. Três famílias distintas com HB apresentaram a mutação p.R333Q (31119 G>A) e em uma família com HB grave foi encontrada a mutação p.R333Stop (31118 C>T). **Conclusão:** Este trabalho tem fundamental importância para fins de aconselhamento genético de portadoras de HB e para melhor compreensão da fisiopatologia da doença.

0295

Sistematização e disseminação de informação com Tabulador Tabet para geração de conhecimento a partir dos dados do sistema Hemovida Web Coagulopatias

Pinheiro KN, Simões BJ, Santos AP, Viana YA, Lourenco OM, Genovez G

Ministério da Saúde, Brasília, DF

Introdução: O maior desafio das instituições na atualidade é utilizar as informações, ou seja, os dados gerados e disponíveis para produção do conhecimento. As informações precisam ser disponibilizadas continuamente para o direcionamento e melhoria do processo de gestão. No setor saúde esse processo constitui instrumento para tomada de decisão mais segura e próxima da realidade. Para o monitoramento da política de atenção aos pacientes com coagulopatias foi implantado, em 2009, o Sistema Hemovida Web Coagulopatias - SHWC em todos os centros tratadores brasileiros de coagulopatias. Ele reúne dados cadastrais, clínicos e infusão desse pacientes. Para disseminação de informações e do SHWC foi utilizada ferramenta de tabulação TABNET desenvolvida pelo Ministério da Saúde. Além disso, considerando a qualificação da análise do dado, foi estabelecida a disponibilização da ferramenta por etapas para os usuários do sistema e, futuramente, a disponibilização para a sociedade.

Métodos: No período de 06/12/2011 a 04/04/2012, a ferramenta TABNET foi liberada de forma gradativa aos usuários do SHWC, conforme perfis de acessos. Os perfis "Gestor Federal" e "Gestor Estadual" foram os primeiros a ter acesso à ferramenta. Em seguida, o acesso foi ampliado ao "Prestador de Assistência 1, 2 e 3", "Prestador de Assistência 2" e "Prestador de Assistência 3". A estratégia de liberação gradativa para uso da ferramenta objetivou assegurar um processo educacional para a tabulação dos dados. Nesse período, todos puderam contribuir para o aperfeiçoamento da ferramenta que será disponibilizada nacionalmente. **Resultados:** A disponibilização da ferramenta TABNET para o SHWC é instrumento facilitador na tabulação dos dados para geração da informação e conhecimento. Atualmente, 546 usuários do SHWC tem disponível a ferramenta TABNET, com acesso a dados epidemiológicos, sociais e de infusão de medicamentos. A sistematização dos dados a partir do TABNET possibilita ainda: publicações considerando a realidade individual de cada unidade da federação e nacional; conhecimento e facilidade no cruzamento de variáveis; cálculo de indicadores para monitoramento da melhoria dos serviços prestados; uniformidade na disseminação de dados; e identificação da completude dos dados coletados. **Conclusão:** A implantação da ferramenta TABNET constitui importante e necessário avanço para a disseminação de dados. Contribui também para a transparência nas ações do poder público e para o monitoramento eficaz das atividades desenvolvidas, em conformidade com a proposta idealizada pelo Sistema Único de Saúde. Ações semelhantes, voltadas para disponibilização de dados, são necessárias para a gestão do conhecimento e tomada de decisão em todas as esferas públicas e o controle social.

0296

Congenital FVII deficiency in pregnancy: a case report

Zeinad-Valim AK, Villaca PR, Carneiro JD, Okazaki E, Chamone DA, D'Amico EA

Serviço de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - HC-FMUSP, São Paulo, SP

Background: Inherited factor VII (FVII) deficiency is a rare autosomal recessive disorder with an estimated incidence of 1:500.000. Bleeding can become evident at levels of FVII less than 10%, but some patients with undetectable levels are asymptomatic. Thrombosis has also been reported. There is no literature data guiding prophylaxis in obstetric patients, only a few case reports, therefore the management is a challenge for physicians. Here we present a case treated successfully with only one day of prophylactic infusion of rFVIIa. Case report: a 27-year-old female, FVII congenital deficient patient, developed minor vaginal bleeding during 16 weeks gestation. She had no previous bleeding history and was not submitted to challenges. Obstetric evaluation

revealed no local cause, and the bleeding ceased spontaneously. Previous laboratory data showed 46% activity in prothrombin time (PT) and normal activated partial thromboplastin time. PT was corrected by mixing with normal plasma, and FVII level was 8%, even after vitamin K supplementation. During pregnancy FVII was 11%, and the thromboelastography was normal. The patient received 20µg/Kg rFVIIa before lumbar puncture and every six hours in the first postpartum day, based on literature data, and no abnormal bleeding was observed during pregnancy and puerperium. At first postpartum day the patient developed change in mental status compatible with herpetic meningitis, treated successfully with acyclovir. The neonate presented with normal hemostatic evaluation.

Conclusion: This case, as reported in the literature, demonstrates that congenital FVII deficiency might not develop bleeding, even if submitted to hemostatic challenge. Although the exact mechanism of thrombotic episodes has not been elucidated, we need to consider this complication and judge the best management, based in the previous bleeding history and possibly in global hemostasis tests.

0297

Papel de um análogo da heparina sobre a hipercoagulabilidade gerada pelos eventos neoplásicos

Palhares LC¹, Cavalcante RD¹, Brito AS¹, Coelho LF¹, Cruz AK¹, Luz JR², Oliveira FW¹, Chavante SF¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, RN

² Universidade Potiguar – UnP, Natal, RN

A heparina é um polissacarídeo sulfatado, pertencente à classe dos glicosaminoglicanos (GAGs), com aspectos estruturais que lhe permite interagir com diversas proteínas, interferindo em processos biológicos importantes, além da coagulação, tais como o câncer. O quadro patológico gerado pelo câncer pode culminar em um desequilíbrio na hemostasia, levando o paciente oncológico a desenvolver um estado de hipercoagulabilidade. Tal condição se deve a um aumento da expressão de moléculas pró-coagulantes, dentre estas o fator tecidual, pelas células neoplásicas. A fim de amenizar tais complicações, a terapia anticoagulante tem sido utilizada em pacientes com câncer. Entretanto, o uso de heparinas além de trazer complicações hemorrágicas, devido à sua potente atividade anticoagulante, tem demonstrado elevadas taxas de recorrência dos fenômenos tromboembólicos. Deste modo, a busca de fontes alternativas para obtenção de compostos análogos à heparina vem sendo ampliada na tentativa de trazer novos agentes terapêuticos com baixas complicações clínicas. Assim, o objetivo desse trabalho foi de avaliar a atividade anticoagulante de compostos extraídos do cefalotórax do camarão *Litopenaeus vannamei* (heparinoides), sobre as células tumorais, além de seu potencial hemorrágico. Para tanto os GAGs foram extraídos do tecido mediante proteólise, e purificado por fracionamento com acetona, seguido de cromatografias de troca-iônica e gel filtração. Os compostos foram então analisados por eletroforese em diferentes sistemas de tampões (PDA, Ba/PDA). A atividade anticoagulante foi verificada através do ensaio de TTPA (Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada), utilizando plasma humano citratado na presença ou ausência de células tumorais sob diferentes concentrações de heparina ou heparinoide. A atividade hemorrágica foi avaliada através do modelo de escarificação de cauda de ratos. A atividade anticoagulante do heparinoide mostrou-se menor quando comparada a heparina, tanto na presença ou na ausência de células tumorais, além de apresentar um reduzido efeito hemorrágico quando comparando a heparina. Os dados obtidos demonstram que os compostos obtidos de invertebrados podem ser utilizados para o controle da hipercoagulabilidade provocada em pacientes com câncer, introduzindo assim uma nova abordagem terapêutica com efeitos adversos limitados.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: DOENÇAS DE PLAQUETAS

0298

Púrpura trombocitopênica imune refratária tratada com Eltrombopag (Revolade): relato de um caso

Gomes L, Costa AP, Duarte CM, Guasti GA, Medeiros CA

Hospital Central do Exército, Rio de Janeiro, RJ

A Púrpura Trombocitopênica Imune (PTI) é uma das causas mais comuns de plaquetopenia adquirida. É causada por auto-anticorpos ou por complexos imunes que diminuem a meia vida plaquetária. Também atuam diminuindo o número de megacariócitos e inibindo a sua maturação. O eltrombopag (Revolade® - GlaxoSmithKline-GSK) é um agonista do receptor da trombopoietina que induz a proliferação e diferenciação em células da linhagem megacariocítica. Descreveremos o relato de um caso de uma paciente com PTI refratária que iniciou tratamento com eltrombopag, doado pelo Laboratório GSK, ao Hospital Central do Exército – Rio de Janeiro; após aprovação do Comitê de Ética do Hospital e consentimento informado assinado pela paciente. MECC, feminina, 55 anos, branca foi avaliada pelo Serviço de Hematologia do HCE em maio de 2001 para investigação de plaquetopenia ($59 \times 10^9/L$). Laudo de mielograma normal. Iniciado prednisona oral -1mg/kg/dia porém, sem resposta, sendo suspenso a corticoterapia por efeitos colaterais. Em julho de 2002 houve piora da contagem plaquetária. Iniciado tratamento com Imunoglobulina (400mg/kg/dia por 5 dias) e com prednisona oral 1mg/kg/dia sem melhora da trombocitopenia. Esplenectomia realizada somente em junho de 2008 devido à recusa por parte da paciente. Após procedimento houve normalização da contagem plaquetária. Ocorreu recaída em fevereiro de 2009, quando foi reiniciado prednisona oral 1mg/kg/dia, novamente sem resposta. Administrado Rituximabe ($375mg/m^2$ 1 x semana por 4 semanas seguidas) em setembro de 2009, porém, também sem resposta. Em novembro de 2009 trocado prednisona para dexametasona oral (8mg/dia) apresentando discreta melhora da trombocitopenia. A paciente evoluiu com diversos efeitos colaterais a corticoterapia. Em outubro de 2010, com a paciente ainda em uso de corticóide sua contagem plaquetária mantinha-se em torno de 3 a $4 \times 10^9/L$. Suspenso o uso da dexametasona e prescrito eltrombopag (Revolade®) na dose de 50mg/dia por 4 semanas. A paciente não apresentou efeitos colaterais da droga porém não houve aumento na contagem das plaquetas. Após a 4ª semana, foi aumentada a dose para 75mg/dia. Após 1 semana de uso de 75mg/dia não ocorreu aumento da contagem plaquetária. Foi, então, associado dexametasona oral 4mg/dia, onde após duas semanas, ocorreu progressivo aumento até $181 \times 10^9/L$ plaquetas. Na 16ª semana de tratamento a paciente evoluiu com infecção do trato urinário sendo tratada com antibióticos. Observou-se nesta ocasião perda da resposta ao eltrombopag. Ao término da antibioticoterapia houve retorno da resposta a medicação. Após 28 semanas (20/04/2011) o eltrombopag foi suspenso e a contagem plaquetária permaneceu em torno de $90 \times 10^9/L$. Mesmo após 1 ano e 2 meses da retirada da droga, paciente está assintomática sem uso de nenhuma medicação em acompanhamento ambulatorial, tendo sua qualidade de vida melhorada substancialmente. Último hemograma realizado em 14/06/2012 mostrou $113 \times 10^9/L$ plaquetas. O uso de Eltrombopag mostrou-se eficaz e seguro no manejo da PTI crônica, mesmo naqueles que já foram submetidos a múltiplas terapias. Não foram observados efeitos colaterais que limitassem o uso do medicamento.

0299

Estudo comparativo entre níveis séricos de desidrogenase lática e proteína C reativa em pacientes com doenças hematológicas não carenciais

Firmento LF, Novaes MA

Secretaria Municipal de Saúde Prefeitura Municipal de São José dos Campos

Estudo comparativo entre níveis séricos de Desidrogenase Lática (LDH) e Proteína C Reativa (PCR) em pacientes com doenças hematológicas não carenciais. Luiz Fernando Neves Firmento; Marco Aurélio Mendonça Novaes

SMS -SJC-SP Introdução: A LDH é uma enzima intracelular da via glicolítica que catalisa a conversão de lactato em piruvato. É liberada na circulação quando ocorre dano celular, aumentando em neoplasias, anemia hemolítica e megaloblástica, PTT, mononucleose e miopatias. A Proteína C Reativa (PCR) é uma proteína reativa de fase aguda, produzida no hepatócito durante processo inflamatório. É citada em trabalhos incluindo pacientes com neoplasia hematológica e doença trombótica. Os níveis de LDH podem ser usados para monitorar o tratamento de tumores sólidos (Testicular e ósseo) e de LNH e alguns tipos de leucemia. Os níveis séricos de PCR aumentam em doenças oncológicas (TGI, pulmão e mama) mesmo quando CEA e outros marcadores estão em níveis normais. **Objetivos:** O objetivo do estudo é correlacionar os níveis séricos destes parâmetros, LDH e PCR. **Métodos:** Foi realizado estudo retrospectivo de pacientes com doenças hematológicas não carenciais: Internados (HMJCF) e ambulatoriais (UES), ambos vinculados a SMS de SJ Campos (SP), entre o período de abril/2009 a Julho de 2012. Foram estudados 47 pacientes divididos em 2 grupos (Lise Celular e Oncológico). Nenhum apresentava quadro infeccioso, por ocasião da coleta de sangue. Todos tinham Índice de Karnofsky (IK) mínimo de 50%. O projeto de pesquisa foi aprovado pela CEP/UNITAU nº 143/11. Os exames foram processados no Laboratório Central (SMS). Foram considerados como valores de referência utilizados pelo laboratório, conforme segue: LDH: 230 a 460 U/l e PCR: até 0,5 mg/dl. **Resultados:** Os Resultados são analisados como medida de tendência e evolução clínica dos pacientes. No grupo Lise Celular, total de pacientes 22, subgrupo Trombocitopenias (n=15) todos estão com boa qualidade de vida, nenhum óbito. No grupo Lise Celular, subgrupo Anemias (n=7) todos também estão com boa qualidade de vida ao término do estudo. O único paciente com PCR muito elevado tinha déficit de G6PD, e evoluiu para IRA em vigência de hemólise grave, remitida totalmente. Dos outros 06 pacientes, 02 com HPN, e os 04 restantes Autoimunes (destes, 02 foram para esplenectomia). As taxas de hemoglobina tiveram influência por transfusões. No grupo Oncológico (25 pacientes), 11 (44%) foram a óbito, 11 (44%) estão vivos com IK > ou = 50% e 03 pacientes (12%) perderam seguimento ou tiveram diagnóstico recente. **Conclusão:** No grupo Oncológico, contrário ao esperado, não houve correlação entre LDH e PCR elevados com a sobrevida. O único óbito com PCR muito elevado (90 vezes o valor de referência), ocorreu num caso de LNH. O subgrupo SMD (n=6) teve o maior número de óbitos (n=4). No subgrupo Anemias as análises dos gráficos não sugerem pior prognóstico, com taxas de LDH e PCR alterados. Os índices de LDH, mais elevados, correspondem a 02 pacientes (uma com recidiva de PTI e outra com PTT). No subgrupo Trombocitopenias, os índices de PCR mais elevados correspondem a 02 outras pacientes com recidivas precoces de PTI refratárias a corticoterapia. Ambas tiveram resposta excelente a imunoglobulina humana (IGH)-EV. Estudos adicionais com maior número de casos são necessários para confirmar a previsibilidade de resposta a IGH-EV.

0300

Púrpura trombocitopênica idiopática pós dengue

Santos MJ, Oliveira LM, Martellosso AO, Leite ES, Quelhas LS

Hospital Municipal da Piedade, Rio de Janeiro, RJ

A Púrpura Trombocitopênica Idiopática (PTI) é uma doença que cursa com plaquetopenia isolada e, que em geral, surge repentinamente após recuperação de doença viral aguda, sendo mais comum durante a infância. No entanto, o início desta patologia após um quadro viral de Dengue tem sido pouco descrito na literatura, evidenciando a raridade da associação entre essas duas enfermidades. Neste sentido, o objetivo do presente estudo é relatar um caso de PTI em adultos pós dengue, que cursou com plaquetopenia importante e sangramento, sendo tratada empiricamente com corticoide, apresentando rápida melhora e recuperação total do quadro. Dessa forma, nosso caso parece revelar a possibilidade de ocorrência da Púrpura Trombocitopênica Idiopática em adultos, após um quadro viral de Dengue. Sendo assim, é de extrema importância a consideração de associações como a relatada diante da gravidade das enfermidades estudadas e da grande incidência da infecção por Dengue por todo o Brasil, principalmente no Rio de Janeiro.

0301

Revisão de casos de púrpura trombocitopênica trombótica no Hospital Municipal Dr. José De Carvalho Florence no período 2009 a 2012

Firmento LF, Janjacom G, Melo DB, Mendes CC

Hospital Municipal Dr. José de Carvalho Florence – HMJCF, São José dos Campos, SP

Introdução: A Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) caracteriza-se por anemia microangiopática e trombocitopenia. Foi descrita pelo pesquisador Moschowitz em 1924. É uma doença rara (5-10 casos/1.000.000 pessoas/ano), com incidência duas a três vezes maior em mulheres entre 30 a 40 anos de idade. Devido a sua apresentação clínica inespecífica, o desfecho pode ser fatal, se não identificada a tempo. A fisiopatologia consiste em liberação de grandes múltiplos de fator Von Willebrand (gmFVW) que pela deficiência de uma protease de clivagem (ADAMTS 13), não são clivados, assim no plasma promoveriam agregação intravascular das plaquetas, resultando na trombose microvascular, levando a isquemia de tecidos. Existe semelhança entre PTT e Síndrome hemolítica urêmica (SHU). Na primeira as manifestações predominantes são em geral neurológicas, e na segunda, insuficiência renal aguda (IRA). O diagnóstico da PTT é baseado na história clínica, nas manifestações neurológicas de graus variáveis e anemia de padrão hemolítico com esquizócitos, trombocitopenia, além de níveis séricos de lactato desidrogenase (LDH) significativamente elevados. O achado de 2 ou 3 esquizócitos num campo microscópico de 100x sugere a presença de hemólise microangiopática. A terapia de escolha é a plasmaférese, que só deveria ser interrompida com plaquetas $\geq 150.000/mm^3$ e LDH normal, já que a interrupção precoce pode causar recidiva em até 50% dos casos. **Objetivo:** Ressaltar a importância do diagnóstico precoce e consequente indicação de plasmaférese. **Métodos:** revisão de prontuários dos pacientes com PTT, diagnosticados no Hospital Municipal Dr José de Carvalho Florence, em SJ Campos-SP, entre janeiro 2009 a março 2012; os valores de referência (VR) de LDH são de 300-620 U/L (Soro). **Resultados:** Foram três pacientes, do sexo feminino, com mediana de 23 anos, todas submetidas a plasmaférese com média de 15 sessões cada. Na admissão, todas tinham níveis LDH 5x VR. Duas delas necessitaram de terapia imunossupressora (vincristina), além do corticoesteróide; a mais idosa

apresentou duas complicações durante a internação: pancreatite aguda e sepse por infecção de cateter venoso central. Importante ressaltar que uma paciente deu entrada com rebaixamento de nível de consciência, instalada ventilação mecânica, ainda com função renal preservada. Rapidamente evoluiu com IRA e níveis de LDH 80x VR, necessitando de terapia dialítica. **Conclusão:** A evolução inicial foi favorável em 100% dos casos, todos remitiram. Houve uma recidiva tardia, 18 meses após o evento, justamente naquela onde houve um atraso no diagnóstico e tratamento. Esta paciente (a mesma que fez IRA na primeira internação) está recebendo alta hospitalar na data de Conclusão deste trabalho.

0302

Eltrombopag in the management of heavily pretreated patient with chronic primary immune thrombocytopenia: a cost-effectiveness analysis in Brazil

Musacchio JG

Clinicas Oncológicas Integradas – COI, Rio de Janeiro, RJ

Primary immune thrombocytopenia is characterized by accelerated platelet destruction. Treatment goal includes bleeding prevention by increasing platelet count to stable, safe range. Eltrombopag (Revolade, GlaxoSmithKline), a thrombopoietin (TPO) nonpeptide mimetic that binds to and activates the TPO receptor leading to increased production of megakaryocytes and platelets in bone marrow. The cost-effectiveness of the thrombopoietic receptor agonist eltrombopag versus standard-of-care (SoC) in chronic primary immune thrombocytopenia from an individual heavily pretreated patient viewpoint was assessed. Disease management and model pathways derived from clinical guidelines (PCDT). Health states comprised controlled ($>=50,000$ platelets/mm³) and uncontrolled ITP ($<50,000$ platelets/mm³). Time-horizon was continuous, not applied. Cost inputs (drugs, hospital, laboratory, and physician visits) were from public reimbursement databases (BPS/SIG-TAP). Eltrombopag price was according to government acquisition requirements (PMVG). Costs were in 2012 Brazilian currency (1BRL=0.60USD). The patient is a 62-year-old caucasian woman with a medical history of asymptomatic thrombocytopenia in 2007. After physical examination, and a performance of bone marrow biopsy and aspiration, the patient was diagnosed with primary immune thrombocytopenia. Prednisone was initiated at the dose of 1,5mg/kg/day, with no improvement over a course of 3 months; therefore, immunoglobulin 1g/kg for twice was done, with platelets counts remaining low and never exceeding 20.000/mm³. Considering the lack of response to corticosteroids and immunoglobulin, immunodepressors were initiated as azathioprine, danazole, and dexametasona in pulses, with no response. Also, rituximab was prescribed for twice. At entirely, the patient received 8 cycles of weekly rituximab over the following months. Because of the heavily treatment, she went to intensive care unit and stayed there for two months, due to a severe pulmonary infection and extended candidiasis esophagitis, that needed tracheostomy. At the time she came to us, she was using prednisone 100mg alternating to 120mg per day, and has just received immunoglobulin 1g/day for two days for nine times in the last two and a half months. Her platelet count was 2,000/mm³. Given the failure of the above therapies, we began eltrombopag, a TPO receptor agonist. After three weeks of treatment with oral eltrombopag at 50 mg daily, the patient's platelet count increased from 2,000 to 6,520/mm³. Six weeks after initiation of eltrombopag, the patient's platelet count increased to 45,200/mm³. In eleven weeks, the platelet count reached 249,000, and the dose was decreased to 25 mg. Nowadays, the patient is well, receiving eltrombopag at 25 mg with no corticosteroids, and with controlled primary immune thrombocytopenia. At the table, the costs for eltrombopag and SoC were calculated and compared. Estimated treatment cost for primary immune thrombocytopenia throughout

a 6-month period was BRL21,779 for eltrombopag plus SoC, and BRL153,010 for SoC. Eltrombopag is cost-effective at current international willingness-to-pay (approximately USD50,000/QALY). When higher or repeated immunoglobulin doses are needed for chronic ITP, eltrombopag becomes cost-saving to the Brazilian Ministry of Health.

0303

Uso do rituximab no tratamento de púrpura trombocitopênica idiopática crônica refratária: estudo de casos

Soares AM, Mejia MM, Azambuja AP, Lobato A, Guerreiro NR, Bana E, Padilha SL, Malvezzi M, Funke VA

Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

Introdução: Púrpura trombocitopênica idiopática (PTI) primária é uma doença autoimune, caracterizada pela destruição anticorpo-mediada de plaquetas, que leva a risco de sangramento, na ausência de outra causa conhecida de trombocitopenia. Estima-se que de 25-30% dos pacientes não respondem ou recaem com os tratamentos de primeira e segunda linha (corticosteroides, imunoglobulina, esplenectomia e imunossuppressores), havendo necessidade de novas opções de abordagem. O Rituximab, um anticorpo quimérico monoclonal anti-CD20, é uma opção que vem sendo estudada. Seu mecanismo de ação parece ser estritamente relacionado à depleção das células B e de sua produção de citocinas e anticorpos. Ainda não há estudos bem controlados, nem tampouco um protocolo bem estabelecido de seu uso na PTI. **Objetivos:** Avaliar a evolução dos pacientes do Hospital de Clínicas da UFPR que realizaram tratamento com Rituximab como uma terceira linha na abordagem da PTI crônica refratária. **Métodos:** Estudo clínico retrospectivo, com revisão de prontuários de pacientes que utilizaram Rituximab como tratamento para PTI no Serviço de Hematologia do HC – UFPR. **Resultados:** 15 casos de PTI crônica refratária foram avaliados. Todos fizeram uso prévio de corticoide, azatioprina e haviam realizado esplenectomia, com respostas variáveis. Eram 11 mulheres e quatro homens, com idade mediana de 32 anos ao diagnóstico (3 a 50 anos). Cinco pacientes apresentavam PTI desde a infância. A mediana contagem de plaquetas ao diagnóstico foi de 27.000/mm³ (variando de 4 a 71.000/mm³). Oito pacientes utilizaram Rituximab, na dose de 375mg/m², em quatro doses semanais (dose análoga ao tratamento de pacientes oncológicos). Um paciente não completou o tratamento por intolerância e realizou somente uma aplicação. Um paciente apresentou resposta completa (RC) em uma semana e permanece sem recaídas, num *follow-up* de 6 meses. Uma paciente apresentou RC tardia (mais de 6 meses após), mantendo plaquetas normais com 2 anos de seguimento. Um paciente apresentou resposta parcial (RP) em duas semanas, e mantém a resposta 4 meses após, sem novas intervenções. Cinco pacientes não responderam, mas mantêm mediana de plaquetas 24.000/mm³ (7 a 34.000/mm³). Não houve infecções relatadas em nenhum paciente nesse período. **Discussão:** O Rituximab é conhecido por induzir resposta duradoura em uma porcentagem considerável de pacientes quando administrado na PTI. Estudos mostram uma taxa de resposta global entre 40-70% e de resposta completa entre 20-50%. No entanto, outros autores mostram que um terço dos pacientes que têm RP tendem a recair em até seis meses, e 50% dos pacientes que apresentam RC recaem em até 3 anos. Em contraste com o encontrado em nosso estudo, na literatura o Rituximab é empregado usualmente como um tratamento prévio a esplenectomia. **Conclusão:** Esta revisão mostrou apenas 3 de 8 pacientes (37,5%) com resposta global, entretanto, o número de pacientes e o curto tempo de seguimento não permite conclusões definitivas. Há necessidade de estudos controlados, envolvendo mais pacientes para que se possa estabelecer o papel dessa droga no tratamento da PTI crônica

refratária e avaliar sua eficácia e segurança, haja vista a possibilidade, ainda que pequena, de complicações como a leucoencefalopatia multifocal progressiva.

0304

Uso de eltrombopag (Revolade) em paciente com trombocitopenia e infecção ativa por vírus da hepatite C: relato de um caso

Gomes L, Castro EJ, Costa AP, Guasti G, Duarte CM, Medeiros CA

Hospital Central do Exército, Rio de Janeiro, RJ

A trombocitopenia é uma manifestação comum em pacientes com cirrose hepática e infecção pelo vírus da Hepatite C (HCV). Tal fato, em muitos casos, pode contra-indicar, descontinuar ou reduzir a dose do peginterferon-alfa, diminuindo ou impedindo um potencial tratamento curativo para estes pacientes. A Trombopoetina é um regulador humoral da produção de plaquetas. O reconhecimento desta substância levou a instituição de tratamentos que estimulasse a produção das mesmas. O eltrombopag (Revolade® - GlaxoSmithKline-GSK) é um agonista do receptor da trombopoetina que induz a proliferação e diferenciação em células da linhagem megacariocítica. Descreveremos o relato de um caso de um paciente com infecção ativa por HCV com plaquetopenia que iniciou tratamento com eltrombopag, seguido da terapia com peginterferon-alfa2A e ribavirina. O uso da medicação foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital e obteve-se consentimento informado por escrito do paciente. JDO, masculino, 55 anos, branco foi encaminhado ao Serviço de Hematologia do HCE em outubro de 2011 devido à plaquetopenia $57 \times 10^9/L$ secundária a infecção ativa pelo HCV genótipo tipo 3a com diagnóstico em agosto de 2011. Na ocasião não foi realizado biópsia hepática pelo Serviço de Hepatologia pois o paciente apresentava sinais indiretos que indicavam cirrose hepática como varizes de esôfago e hipertensão portal. O paciente tinha indicação de iniciar tratamento com peginterferon alfa2A e ribavirina, porém devido a plaquetopenia este não foi iniciado. Decidido, então, prescrever o eltrombopag 50mg/dia com objetivo de incrementar os valores plaquetários a fim de que pudesse iniciar o tratamento específico para HCV. Após duas semanas de uso e monitorização de possíveis efeitos colaterais, em especial hepáticos, a contagem de plaquetas atingiu valores de $176 \times 10^9/L$. Iniciado tratamento com peginterferon alfa2A e ribavirina. Ao longo de quatro semanas foi observada uma queda das três linhagens hematológicas devido ao efeito mielotóxico do interferon. O hemograma mostrou hemoglobina de 10,6g/dl, leucometria 2600 células/mm³ e plaquetas de 56000/mm³. Manteve-se tanto o tratamento com eltrombopag como do interferon com ribavirina sendo que na 10ª semana os valores hematológicos estabilizaram-se. Na 12ª semana foi realizada avaliação da carga viral por técnica de PCR para HCV cujo resultado foi negativo. O paciente segue em tratamento com previsão de término após 48 semanas. Até o momento não foi observado nenhum efeito colateral pelo uso do eltrombopag e o paciente segue em acompanhamento conjunto com o Serviço de Hematologia e Hepatologia. Este relato de caso mostra que o uso do eltrombopag foi eficaz, aumentando os valores plaquetários, permitindo o início do tratamento para o vírus da hepatite. Este caso assemelha-se aos pacientes dos estudos ENABLE-1 e ENABLE-2, que apresentavam plaquetopenia menor que $75 \times 10^9/L$, onde foi iniciado eltrombopag previamente ao tratamento com interferon e ribavirina. O paciente não apresentou efeito colateral relacionado ao uso da droga. O uso de Etlrombopag mostrou-se eficaz e seguro no manejo de pacientes com plaquetopenia relacionada à infecção pelo HCV, permitindo o início de tratamento específico naqueles pacientes onde previamente havia contra-indicação. Não foram observados efeitos colaterais que limitassem o uso do medicamento.

0305

Análise de custo-efetividade de Etlrombopag no tratamento de púrpura trombocitopênica idiopática crônica

Machado M¹, Pimentel A¹, Musacchio J^{2,3}, D'amico E⁴

¹ GlaxoSmithKline Brasil

² Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Clínicas Oncológicas Integradas – COI, Rio de Janeiro, RJ

⁴ Universidade de São Paulo – USP, SP

Objetivos: Avaliar a relação de custo-efetividade de eltrombopag *versus* o tratamento padrão em pacientes com púrpura trombocitopênica idiopática (PTI) crônica a partir da perspectiva econômica do Sistema Único de Saúde (SUS). **Métodos:** Um modelo econômico de Markov foi desenvolvido, onde estados de saúde e características de manejo de pacientes com PTI crônica provêm do protocolo clínico e diretrizes terapêuticas (PCDT, 2010) do Ministério da Saúde. Os pacientes avaliados foram aqueles hipoteticamente diagnosticados com PTI, com contagem plaquetária $<30.000/mm^3$ e previamente tratados com terapias de primeira e/ou segunda linha, incluindo esplenectomia. Foram comparados eltrombopag 50mg/dia *versus* terapia padrão (definida por PCDT, 2010 no item doença refratária). O horizonte temporal da análise foi de 6 meses. Dados de eficácia das terapias comparadas foram baseados no estudo Cheng G, *et al.* Lancet 2011;377(9763): 393-402. Todos os custos do manejo de PTI incluindo situações de emergência foram calculados a partir de base de dados públicas (i.e., BPS e SIGTAP). Análises de sensibilidade avaliaram a robustez do modelo. **Resultados:** Cheng e colaboradores (2011) reportam respostas clínicas estatisticamente superiores com eltrombopag *versus* terapia padrão (*odds ratio* 8,2, 99% CI 3,59-18,73; $p<0,0001$). A chance de sangramento grave associado a doença foi significativamente inferior no grupo tratado com eltrombopag *versus* terapia padrão (0,35, 95% CI 0,19-0,64; $p=0,0008$). Apenas 18% dos pacientes com eltrombopag receberam terapia de resgate em situações de emergência *versus* 40% daqueles com terapia padrão. A incidência e gravidade de eventos adversos reportada foram relativamente equivalentes entre os comparadores, onde estudos de longo prazo e metanálises não evidenciam riscos aumentados de eventos tromboembólicos associados a terapia com eltrombopag. Com base nestes dados, a relação de custo-efetividade entre eltrombopag e terapia padrão foi calculada. Os custos associados ao manejo de PTI crônica durante os 6 meses de análise foi de R\$21.779 para eltrombopag e R\$18.989 para a terapia padrão. Os anos de vida ajustados pela qualidade (AVACs) foram maiores para eltrombopag comparado a terapia padrão (0,377 *versus* 0,355, respectivamente). Ao final dos 6 meses de análise, 50,49% dos pacientes hipotéticos avaliados no modelo de Markov apresentaram resposta clínica com eltrombopag *versus* 13,43% com terapia padrão. A razão de custo-efetividade incremental foi de R\$67.172 por cada AVAC incremental. Análises de sensibilidade revelaram que 50% dos custos com terapia padrão foram associados ao uso de imunoglobulina humana como terapia de emergência devido ao alto risco de sangramento grave nos pacientes tratados somente com terapia padrão. Quando requerido mais de 1 (um) dia de tratamento com imunoglobulina humana (1mg/kg) em situações de emergência, eltrombopag reduziu os custos de tratamento de PTI crônica em comparação a terapia padrão (R\$23.222 *versus* R\$28.382, respectivamente). **Conclusão:** Etlrombopag é custo-efetivo para tratamento de PTI crônica no SUS. Em situações de emergência onde mais de uma infusão de imunoglobulina humana (1mg/kg) é requerida, eltrombopag reduz custos da doença em comparação a terapia padrão. Etlrombopag mostrou-se capaz de aumentar os anos de qualidade de vida e resposta clínica de pacientes com PTI crônica.

0306**Púrpura trombocitopênica trombótica em adolescente de 15 anos: relato de caso**

Marques FP, Silveira CM, Pereira HP, Monteiro LR, Melo JL, Faeda TG, Velano CE, Santos AF, Borges MM

Universidade José do Rosário Vellano, Belo Horizonte, MG

A púrpura trombocitopênica trombótica é uma doença rara (5-10 casos/1.000.000 de pessoas/ano), que afeta ambos os sexos, sendo sua incidência duas a três vezes maior em mulheres entre 30-40 anos de idade. A PTT é caracterizada pela oclusão da microcirculação, levando a síndrome de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, sintomas neurológicos, febre e insuficiência renal. Deve-se ser diagnosticada e tratada prontamente a fim de se obter melhor resposta terapêutica. Apresentamos um caso de PTT aguda, grave, em uma paciente de 15 anos tratada com 11 sessões de plasmaférese e corticoide terapia. Na admissão paciente se encontrava com cefaleia holocraniana de forte intensidade há dois dias, afebril, sem alterações ao exame neurológico e a tomografia computadorizada de crânio, relatando equimoses em membros inferiores há duas semanas. Os exames laboratoriais iniciais mostravam hemoglobina de 7,6g/dl, leucocitose, plaquetas de 20.000/mm³, esquizócitos +, poiquilocitose ++, hipocromia++, DHL de 2.156 IU/L. Houve rápida alteração do nível de consciência, com torpor, febre e anúria. Iniciou-se tratamento com plasma fresco congelado, enquanto se providenciava plasmaférese. Paciente transferida para Unidade de Terapia Intensiva para a realização da primeira plasmaférese no município de Alfenas - MG. Ao fim de oito sessões de plasmaférese paciente apresentou remissão completa do quadro, com plaquetometria de 322.000/mm³ no momento da alta, mantendo-se normalizada há 5 semanas. A plasmaférese e corticoterapia se mostrou eficiente no controle de PTT aguda grave.

0307**Thromboelastography as screening test for the diagnosis of Scott Syndrome**

Villaca PR, Rocha TR, Okazaki E, Valim AK, Chamone DA, Amico ED

Universidade de São Paulo – USP, SP

Background: Scott syndrome (SS) is a rare bleeding disorder, characterized by impaired platelet procoagulant activity (PCA). The laboratory tests for its diagnosis are available in specialized laboratories, and sometimes only for research purposes. Case report: a 35-yo male patient was referred to our centre for diagnosis of hemostasis disorder. He had a history of bruises and hematomas since childhood. Blood transfusion was required after postectomy and crural hernioplasty. His family history for bleeding was negative. Laboratory investigation showed normal measurement of all coagulation factors, including vWF antigen/activity, normal evaluation of fibrinolytic system (alpha2-antiplasmin, plasminogen and euglobulin lysis time) as well as platelet aggregometry (ADP, ADR, arachidonic acid, collagen and ristocetin). Thromboelastography (TEG) was hypocoagulant (prolonged R and K, reduced angle, MA, G, TG, MRTG and TMRTG), which led to consider abnormality of PCA. Then a series of TEGs was performed, mixing total blood (patient and control) with platelet poor plasma (PPP) and platelet rich plasma (PRP) of the patient and control. When PRP (control) was added to patients total blood, TEG was normalized, suggesting PCA dysfunction, and the hypothesis of SS was made. A PCA test was performed using washed platelet and activated *prothrombinic* complex, resulting in reduced PCA. After that, we performed the phosphatidylserin expression by flow cytometry using annexin

V and a thrombin generation assay with control PRP, confirming the diagnosis of SS. **Conclusion:** SS is a rare disease, and usually confirmatory tests are not part of the routine, even in specialized laboratories. TEG using mixtures of total blood and PRP of patient and control can be a simple and less expensive alternative method for screening impaired PCA in patients with bleeding disorders. In this case such approach helped in elucidating the diagnosis when sophisticated tests as annexin V and thrombin generation were not promptly available.

0308**Deficiência de ciclooxigenase: o difícil diagnóstico desta plaquetopatia em paciente com sangramentos desde infância**

Rassi AB, Amico EA, Villaa PR, Krüse A, Okazaki E

Hospital da Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FM-USP, SP

Introdução: As plaquetopatias ou distúrbios hereditários da função plaquetária são doenças raras. De modo geral, os pacientes apresentam sangramentos cutaneomucosos, como púrpuras e petéquias, gengivorragias, equimoses superficiais, menorragia e metrorragia, epistaxes e sangramento do trato gastrointestinal. Os principais representantes são a Síndrome de Bernard-Soulier, trombostenia de Glanzmann e a doença de estoque plaquetário. As demais plaquetopatias permanecem muito pouco conhecidas mesmo aos hematologistas, conferindo desafio diagnóstico e terapêutico. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, branca, de 36 anos, procurou serviço de hemostasia da FMUSP em outubro de 2011 para investigação de sangramento. Paciente relatava história de epistaxe e gengivorragias frequentes durante a infância. Quadro de sangramento se intensificou aos 28 anos após parto cesáreo, quando evoluiu com hemorragia grave que cessou após transfusão plaquetária. No ano que se seguiu apresentou cistos ovarianos hemorrágicos e metrorragia refratária a medidas clínicas, decidindo-se por histerectomia e ooforectomia. Investigada na época, com diagnóstico de Doença Von Willebrand. Após seus 34 anos, iniciou quadros frequentes de enterorragias volumosas e hematúria. Um destes quadros necessitou de internação no Hospital de Clínicas de Curitiba, onde foi amplamente investigada, com exames de imagem sem alterações. Endoscopia digestiva alta e colonoscopia com mucosa extremamente friável. Passou a necessitar de transfusões frequentes e evoluiu com diminuição progressiva de resposta à transfusão de plaquetas e ao uso de agentes antifibrinolíticos. Ao ser avaliada em nosso serviço, exames laboratoriais mostraram anemia ferropriva, com coagulograma e contagem plaquetária normais. Teste de agregação plaquetária foi compatível com agregação ausente no ácido araquidônico, hipoa-gregação em ADP, adrenalina e colágeno e agregação normal na ristocetina. Dosagem de fibrinogênio dentro do valor de normalidade. Atividade do cofator de ristocetina, fator de Von Willebrand e Fator VIII estavam normais. Diante destes exames levantou-se a hipótese de deficiência de ciclooxigenase, o que foi reforçado pela baixa dosagem de MDA de 0,2 (referência >1,2). Atualmente a paciente evoluiu com aumento progressivo da necessidade transfusional, em fila de transplante de medula óssea não aparentado. **Discussão:** Descrevemos caso de paciente com sangramento de mucosa frequente durante a infância, que progrediu gradualmente para episódios hemorrágicos graves e de difícil controle. O diagnóstico mostrou-se difícil e trabalhoso, envolvendo extensa investigação pelas equipes de dois grandes serviços especializados. A paciente passou a apresentar com o tempo provável aloimunização plaquetária, deixando de responder à transfusão deste hemocomponente. Discute-se agora uso de terapêuticas experimentais, tais como inibidores da angiogênese como a Talidomida, agentes de bypass como o Fator VII ativado, e mesmo o transplante alogênico

co de medula óssea. **Conclusão:** As plaquetopatias permanecem campo pouco conhecido da hemostasia, de difícil diagnóstico e manejo. A transfusão plaquetária a princípio é terapêutica fácil, mas diante de aloimunização e conseqüente baixo rendimento plaquetário os tratamentos parecem praticamente se esgotar. São necessários maiores estudos que auxiliem nesta difícil tarefa.

0309

Púrpura trombocitopênica idiopática pós-dengue: relato de dois casos

Moreira PA, Cavalcanti LH, Dantas SG, Neves FF, Lira AR, Lessa FH, Derks Y, Matias RL, Figueiredo SS, Botelho LF

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: A púrpura trombocitopênica idiopática (PTI) é uma desordem autoimune adquirida, na qual ocorre queda da contagem de plaquetas e manifestações hemorrágicas, na maioria das vezes, cutaneomucosas, leves ou moderadas. A PTI pode ser primária/idiopática, ou secundária, associada a alguma doença de base, e aguda ou crônica. A plaquetopenia é um fenômeno comum nas infecções virais, podendo ser decorrente de ação direta do vírus nas diversas etapas de produção plaquetária ou através de mecanismos imunomediados, este explicando a ocorrência da PTI pós-dengue. A desregulação do sistema imunológico, influenciada por fatores ambientais e genéticos, leva a produção de autoanticorpos voltados contra glicoproteínas plaquetárias. Outro mecanismo supostamente envolvido seria a reação cruzada de anticorpos específicos da dengue com moléculas presentes na superfície plaquetária, através de mimetismo molecular existente entre essas e antígenos virais. **Relatos:** Caso 1- Paciente, masculino, 27 anos, natural e procedente de Guarabira–PB, com queixa de manchas no corpo há 3 dias. História de cefaleia, febre, dor ocular e astenia há 20 dias. Recebeu atendimento médico no Hospital de Guarabira. Evoluiu com quadro de petéquias e púrpuras difusas por tronco e membros. Hemograma: plaquetas indetectáveis no contador eletrônico, sem alterações nas demais séries hematológicas. Realizou infusão de 7 concentrados de plaquetas e iniciou uso de prednisona 80mg/dia. Plaquetas ainda indetectáveis um dia após a infusão. Encaminhado ao hemocentro; novo hemograma: 2.000 plaquetas/mm³. Realizou infusão de imunoglobulina humana, EV, 5,0g/dia por 5 dias. Mantida prednisona 80mg/dia. Sorologia para dengue: IgM e IgG reagentes. Evoluiu com regressão do quadro cutâneo e melhora da contagem plaquetária, porém esta dependente da dose de corticoide. No momento, em uso de prednisona, 40mg/dia. Caso 2- Paciente, feminino, 47 anos, Natural e procedente de João Pessoa–PB, apresentando queixa de sangramentos há 2 dias. Nove dias antes, apresentou quadro de febre, mialgia e cefaleia. Hemograma: 18.000 plaquetas/mm³. Teste rápido para dengue: IgM e IgG reagentes. Após 7 dias, evoluiu com petéquias, gengivorragia e metrorragia intensa, além de posterior associação com hematúria. Encaminhada ao Hospital Clementino Fraga, com hemograma revelando 10.000 plaquetas/mm³. Realizou infusão de concentrado de plaquetas, sem melhora da contagem (9.000/mm³). No segundo dia de internação, iniciou uso de prednisona, 60mg/dia. Após regressão do quadro hemorrágico, recebeu alta e foi orientada quanto ao desmame do corticoide. Três meses após, há 30 dias sem uso de corticoide, sem manifestações hemorrágicas e plaquetometria: 264.000/mm³. **Discussão:** A dengue pode se apresentar com manifestações cutâneo-hemorrágicas no decorrer de seu quadro clínico, caracterizando seu subtipo hemorrágico, ou de forma tardia, pelo desenvolvimento de PTI. Frente a um paciente trombocitopênico, devemos pesquisar as causas que possam explicar essa condição, o que inclui as infecções virais. No contexto de um país tropical como o Brasil, a PTI pós-dengue se destaca como um importante diagnóstico diferencial a ser considerado.

0310

Trombastenia de Glanzmann e telangiectasias hemorrágicas de repetição

Macedo EM, Santos FN, Oliveira EA, Santos FP, Bautzer VR, Lima MM, Souza CL, Hamerschlak N, Colombini MP, Helman R

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Introdução: A Trombastenia de Glanzmann (TG) é uma doença autossômica recessiva que se caracteriza por ausência da agregação plaquetária e discrasia hemorrágica crônica. Na TG há deficiência ou disfunção do complexo de integrina α IIb β 3, decorrente de mutações nos genes *ITGA2B* ou *ITGB3*. Raros casos de TG cursam com angiodisplasia intestinal. Descrevemos um caso de TG que apresentava angiodisplasias intestinais de repetição. **Relato de Caso:** Paciente do sexo masculino, 42 anos, iniciou aos 3 anos de idade episódios de gengivorragia quando foi diagnosticada TG. Manteve-se com quadro de epistaxes mensais e episódios de sangramento gengival intermitentes até os 22 anos. Começou então a apresentar episódios de hemorragia digestiva alta. Realizou endoscopia que mostrou lesão vascular em terceira porção duodenal. Arteriografia era compatível com sangramento em artéria gastroduodenal. Realizou embolização com sucesso. No entanto, ao curso dos próximos 8 anos evoluiu com diversos episódios de sangramento intermitente em trato digestivo alto, necessitando de múltiplas internações, transfusões e endoscopias com cauterização de teleangiectasias digestivas. Terapia medicamentosa nesse período incluiu Primolut, Testosterona e Talidomida, sem melhora das lesões hemorrágicas. Devido a persistência dos episódios de sangramento digestivo alto, paciente buscou o Centro de Hematologia do Hospital Israelita Albert Einstein para tratamento de sua condição. Na internação apresentava anemia (Hb 7.8 g/dL), queda do estado geral e hemorragia digestiva com diversos episódios de melena. Foi realizada cintilografia que demonstrou sangramento em jejuno, íleo terminal e ceco. Feita enteroscopia e colonoscopia e realizada cauterização com argônio com controle do sangramento. Após 5 dias apresentou novo episódio de sangramento, e arteriografia mostrou sangramento jejunal pela artéria mesentérica superior, sendo realizada embolização. Durante todos os procedimentos invasivos, foi feita profilaxia de hemorragia com fator VII recombinante, uma vez que paciente tinha refratariedade plaquetária. Evoluiu com melhora da anemia e sem novos episódios de sangramento. Dado alta hospitalar com uso de hormônio (noretrediona) para controle e prevenção de novos sangramentos. **Discussão:** A angiodisplasia gastrointestinal é complicação frequente de doenças hereditárias da coagulação como a doença de von Willebrand, sendo no entanto raramente encontrada em pacientes com TG. A fisiopatologia das teleangiectasias hemorrágicas em TG é desconhecida, porém pode envolver diminuição da expressão da integrina α V β 3 (nos casos com mutação do gene *ITGB3*), que é o receptor do Fator de Von Willebrand. O fator VII recombinante e a terapia hormonal são terapias utilizadas em casos de sangramento de difícil controle e foram as opções escolhidas para nosso paciente permitindo a cauterização das lesões e estabilização do quadro hemorrágico.

0311

Implantação do volume plaquetário médio na rotina do hemograma: impacto do anticoagulante, tempo de análise e determinação dos valores de referência

Takih IY¹, Sá J², Pacheco LZ¹, Chauffaille ML¹, Rizzatti EG¹, Sandes AF¹

¹ Setor de Hematologia/Automação, Grupo Fleury, São Paulo, SP

² Tecnologia da Informação, Grupo Fleury, São Paulo, SP

Introdução: A informação sobre o tamanho das plaquetas, volume plaquetário médio (VPM), é fornecida por vários analisadores hematológicos. Porém, este parâmetro mostrou-se de difícil padronização, pois sofre numerosas variáveis, como tipo de tecnologia, efeitos dos anticoagulantes e tempo de execução da amostra. Sendo assim, é aconselhável que cada laboratório estabeleça seu próprio valor de referência. Nos últimos anos, observou-se um crescimento importante das publicações, relacionando o VPM com doenças cardiovasculares e cerebrovasculares. Além disso, o VPM tem demonstrado também ser sensível e específico para discriminar a trombocitopenia imune causada por púrpura da causada por anemia aplástica. **Objetivos:** determinar a influência do tipo de anticoagulante e o tempo de análise após a coleta no VPM e calcular o intervalo de referência normal. **Métodos:** Foram analisadas amostras de sangue periférico de 20 controles coletadas com três tipos de anticoagulantes: ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), citrato de sódio e monovette® (Sarstedt). O VPM foi determinado imediatamente após a coleta e após 30 min, 1h, 3h, 6h e 24 h, utilizando dois equipamentos Sysmex- XE2100. A calibração foi avaliada duas vezes ao dia com o controle comercial E-Check. O VPM foi calculado através da seguinte fórmula: $VPM (fL) = [(\text{plaquetócrito } (\%) / \text{contagem de plaquetas } (mm^3))] \times 10^3$. Após escolha do anticoagulante a ser utilizado, foram analisados 2018 amostras consecutivas de indivíduos sadios para a determinação do intervalo de referência do VPM. **Resultados:** Imediatamente após a coleta, o valor médio de VPM das amostras com EDTA foi de $10,2 \pm 0,7$ fL (9,2-11,6), com mediana de 10. O VPM médio das amostras com citrato foi $9,6 \pm 0,6$ fL (8,5-10,9), com mediana de 9,6 e o VPM médio com o tubo monovette foi $9,1 \pm 0,7$ fL (8,3-10,8), com mediana de 9 fL. Houve um aumento no valor do VPM após 30 min da coleta, com aumento médio de 0,36 fL (correspondendo a um aumento de 3,5% em relação ao início) para o EDTA, 0,28 fL (2,9%) para o citrato e 0,14 fL (1,6%) para o monovette. O VPM aumentou durante o período de 24h para todos os anticoagulantes, com aumento global de 6,2% com o EDTA, aumento de 4,3% no citrato e 10,1% com o Monovette. Para cálculo do intervalo de referência foi escolhido o anticoagulante EDTA e os valores de referência ficaram entre 9,2 e 12,6 fL (intervalo de confiança de 90%, na curva de Gauss, teste não paramétrico). **Discussão:** Na rotina laboratorial, dificilmente o hemograma é realizado imediatamente após a coleta. Assim, o tempo pode ser um obstáculo para a análise dos parâmetros plaquetários na prática clínica. O EDTA é o anticoagulante mais utilizado na rotina do hemograma, pois em contraste com muitos outros anticoagulantes, preserva a morfologia celular e mantém boas condições para a contagem celular. Nossos Resultados demonstram que o EDTA é um anticoagulante seguro para determinação do VPM em amostras de sangue analisadas no prazo de 24h após a coleta

0312

Púrpura trombocitopênica trombótica como manifestação inicial da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

Araújo CA, Corrêa TN, Athayde MS, Hugo CP, Ribeiro DD

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

Introdução: A Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) é uma emergência clínica-hematológica associada a elevada morbimortalidade. A fisiologia da PTT parece estar associada à deficiência congênita ou adquirida da ADAMTS 13, quando na diminuição desta os grandes multímeros de von Willebrand não são lisados. Estes são capazes de induzir agregação plaquetária, com consequente formação de trombos. A pesquisa de sorologia para HIV deve fazer parte da avaliação inicial. **Objetivo:** relatar a importância de etiologias secundárias na avaliação inicial do paciente

com diagnóstico de PTT. **Relato de Caso:** LRL, 25 anos, natural e residente de João Monlevade - MG com histórico de plaquetopenia transitória há quatro meses, foi referida ao HC / UFMG na noite de 23/07/2012 devido a anemia, plaquetopenia e menometrorragia. Não foram observadas alterações ao exame clínico. Propedêutica laboratorial admissional revelava um coagulograma normal e plaquetopenia grave ($7.000/mm^3$). Ecotscopia com grave palidez cutânea. Mielograma evidenciava grande número de megacariócitos sem outras alterações. Iniciado prednisona 1mg/kg/dia e solicitada propedêutica restante. Em 24/07/2012 liberado exames admissionais com LDH de 3419 U/L, contagem de reticulócitos de 9,2 % e 8.000 plaquetas/mm³. Ausência de alterações nas funções hepática e renal. Sem novas queixas ou alterações no exame físico. Propedêutica liberada no dia 26/07/2012 com pesquisa de esquizócitos positiva e reticulócitos de 12,6 %, hemoglobina de 6,2 g/dL e plaquetas de $21.000/mm^3$. Evoluiu no dia seguinte com piora do estado geral, elevação de escórias renais, confusão mental, hematêmese e equimoses em face e tronco. Plasmaférese indicada com resolução dos sintomas e elevação da contagem de plaquetas já na primeira sessão. Sorologias colhidas na admissão mostraram positividade para HIV. **Discussão:** a PTT é incomum, mas não rara. Sua incidência tem sido estimada em 2 a 7 milhões de pessoas/ano. Tal taxa parece ser afetada por raça, sexo, prevalência de infecção pelo HIV e fatores ainda desconhecidos. A sorologia positiva para o HIV está reportada em aproximadamente 50% dos casos de PTT diagnosticados em grandes centros urbanos. **Conclusão:** a pênade clínica de anemia hemolítica, trombocitopenia, sintomas neurológicos, febre e insuficiência renal é incomum e ocorre em apenas 40% dos casos de PTT. A pesquisa sorológica para HIV deve sempre fazer parte do arsenal propedêutico inicial.

0313

Uso do fator VII ativado recombinante em portador de Trombastenia de Glanzmann

Figueiredo SS^{1,2,3}, Queiroz FB¹, Lack AT², Medeiros LL², Angelo GK²

¹ Hemocentro da Paraíba, João Pessoa, PB

² Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba – FCM-PB, João Pessoa, PB

³ Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande, PB

Introdução: A trombostenia de Glanzmann (TG) é uma patologia autossômica recessiva rara que se caracteriza por carência ou defeito funcional da glicoproteína (GP) IIb/ IIIa. Portadores da TG podem apresentar uma série de manifestações clínicas, como sangramento gastrointestinal, menorrágia, hematúria, púrpura, epistaxe, equimoses, hematoma muscular, sangramento gengival, hematúria e hemorragia traumática ou pós-operatória. Dentre as alternativas de tratamento, a transfusão de plaquetas é o método de escolha para hemorragia grave e apoio em cirurgias. Entretanto, transfusões plaquetárias repetidas podem resultar num processo de aloimunização a HLA (humanleukocyteantigen) e/ou a GP (IIb-IIIa), tornando ineficazes as transfusões posteriores. Especialmente após o relato de Tengborn e Petruson sobre o bem sucedido uso do fator VII recombinante ativado (rFVIIa) no controle de epistaxe intratável em criança com TG, o rFVIIa vem sendo cada vez mais utilizado em portadores dessa patologia. Outros autores têm relatado a eficácia do rFVIIa na terapêutica de sangramentos ou na cobertura de cirurgias em indivíduos com TG. **Relato de Caso:** M.N.S., 26 anos, sexo masculino, foi encaminhado ao ambulatório de hematologia do Hemocentro da Paraíba em 10.10.11 por apresentar história de epistaxes desde a 1ª infância, além de gengivorragias recorrentes e equimoses pós-traumáticas. Exames realizados no serviço revelaram: Fator VIII = 94,2%; Fator de Von Willebrand = 85%; Testes de Agregação Plaquetária com

Adrenalina = 4%; ADP = 3% e Colágeno = 14%. Com base nos Resultados dos exames, foi feito o diagnóstico de Trombastenia de Glanzmann (TG). Como apresentava higiene oral bastante precária, o paciente foi encaminhado ao serviço odontológico, cuja avaliação resultou na indicação de oito extrações dentárias. No dia 11/10/11, o paciente foi submetido à hemotransfusão de plaquetas (01 unid/10kg) e ácido tranexâmico EV (10 mg/kg) para realização de três exéreses dentárias. Cada exodontia era seguida de sutura com colocação de esponja de fibrina e *ácido tranexâmico local*. O procedimento ocorreu sem intercorrências, com ausência de sangramentos. Uma semana após o procedimento anterior, foram realizadas mais duas exéreses dentárias, sendo o paciente submetido ao mesmo protocolo de tratamento realizado anteriormente. No entanto, nessa ocasião, o mesmo apresentou quadro importante de hemorragia iniciada imediatamente após o procedimento odontológico. Foi realizada uma nova dose de plaquetas (01U/10kg), sem sucesso. Optou-se, então, por administrar Fator VII ativado recombinante na dose de 90µg/Kg a cada 2 horas (duas doses). Após administração da 1ª dose do produto, a hemorragia cessou por completo. Em 31.01.12, o paciente foi novamente submetido a uma exérese dentária. Nessa ocasião, a opção foi pelo uso apenas do Fator VIIa (90 microgramas por quilo a cada 02 horas, no total de 02 doses), além de *ácido tranexâmico* injetável. O procedimento ocorreu sem anormalidades, sendo refeita tal conduta em 02 episódios de epistaxes apresentados pelo paciente, com sucesso. **Conclusão:** O uso do Fator VII ativado recombinante foi eficaz para controle de hemorragias em paciente portador de TG refratário à transfusão de plaquetas.

0314

Púrpura trombocitopênica imune associada a tuberculose pulmonar: relato de caso

Faria FH, Santana SA, Silva RO, Corrêa TN, Hugo CP, Athayde MS, Araújo CA, Araujo SS, Glória AB, Delgado RB

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

Introdução: O Brasil está entre os países que concentram 82% dos casos de tuberculose (TBC) no mundo, com uma taxa de incidência de 36 casos/100mil habitantes e uma taxa de mortalidade de 2,4 óbitos/100mil habitantes. Alterações hematológicas associadas à TBC são bem conhecidas, dentre elas: anemia, leucocitose, leucopenia, linfocitopenia, neutrofilia, monocitopenia, trombocitose, plaquetopenia e pancitopenia. Hipóteses para os mecanismos fisiopatológicos consideram: comprometimento medular com a presença de granulomas, necrose ou mielofibrose; mecanismos imunes induzidos por drogas, pelo próprio patógeno, ou relacionados a outras patologias como púrpura trombocitopênica trombótica, síndrome hemolítico-urêmica ou coagulação intravascular disseminada. Púrpura trombocitopênica imune (PTI) é um diagnóstico de exclusão, feito a partir da observação de plaquetopenia, descartadas outras causas. A associação entre PTI e TBC é extremamente incomum. A sua fisiopatologia não está esclarecida, mas a literatura aponta para a formação de anticorpos antiplaquetários a partir da proliferação clonal de linfócitos, como resposta imune ao bacilo. Nos poucos casos relatados, o sucesso do tratamento instituído, baseado na associação de drogas anti-tuberculosas com corticóides, imunoglobulinas, outros imunossupressores e esplenectomia, reforçam as teorias da imunomediação. **Relato de Caso:** APS, feminino, 57 anos, admitida no HC-UFMG com relato de febre, hiporexia, tosse, epistaxe, metrorragia há 3 semanas e perda de 15kg nos últimos 2 meses. Exame físico: petéquias e equimoses disseminadas, taquipnéia e quadro consumptivo. Ausência de visceromegalias e linfadenomegalias. Exames complementares: Hb: 10g/dl, Leucócitos totais: 5230/mm³, Plaquetas: 1.000/mm³, Bilirrubina indireta: 0,29g/dl, Coombs++/4+, Reticulócitos corrigido: 1,8%; LDH: 1828 U/L. Pesquisa de esquizócitos negativa. Sorologias para Hepatite B, C, HIV, CMV e VDRL negativas. FAN negativo. Função tireoidiana normal. Miелоgrama: medula óssea hiperplásica, com representatividade das séries próprias da medula, série megacariocítica normocelular, com produção plaquetária. Ausência de células neoplásicas, parasitas ou figuras de hemofagocitose. Raio-X de tórax: infiltrado retículo-nodular bilateral. Tomografia de tórax: áreas de consolidação bilaterais, entremeadas por áreas de vidro fosco e opacidades nodulares, sobretudo em lobos superiores e presença de numerosas cavitações de perimeio. Pesquisa de BAAR em escarro positiva 3+/4+ em duas amostras. Instituído tratamento com esquema RIPE e prednisona 1mg/kg/dia. A paciente recebeu alta hospitalar após 20 dias do início do tratamento, apresentando 23.000 plaquetas/mm³, ausência de sinais de sangramentos e melhora importante do estado geral. Hemograma da primeira semana após suspensão do corticóide: Hb: 11.7g/dl, Leucócitos totais: 16139/mm³, Plaquetas: 66.000/mm³. Após três meses de evolução, a paciente apresentava: Hb: 14g/dl, Leucócitos totais: 6060/mm³, Plaquetas: 235.000/mm³. **Discussão:** Este caso evidencia a interrelação causal entre PTI e TBC pulmonar, que é reforçada pela eficácia do uso de corticoide e anti-tuberculosáticos no tratamento e pela manutenção de resposta duradoura após a suspensão do mesmo. **Conclusão:** Sendo o Brasil país de alta prevalência da TBC, esta deve ser considerada como uma possível associação aos quadros de plaquetopenia sugestivos de PTI.

0315

Correlação clínica de três casos de síndrome de Wiskott-Aldrich com as mutações encontradas no gene da WASP

Siqueira LH¹, Colella MP¹, Annichino-Bizzachi JM¹, Paula EV¹, Vilela MM², Ozelo MC¹

¹ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

² Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: A síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS) é uma doença recessiva ligada ao cromossomo X, em decorrência de mutações no gene da proteína (WASP) envolvida na transdução de sinalização celular ao citoesqueleto de actina. A forma clássica de WAS inclui a tríade de microtrombocitopenia, eczema e imunodeficiência. Mutações no gene da WASP também podem estar associadas a outras manifestações mais leves como a trombocitopenia ligada ao X (XLT) e a neutropenia ligada ao X (XLN). Neste estudo avaliamos duas manifestações clínicas da WAS e sua correlação com as mutações encontradas no gene da WASP. **Métodos:** Foram analisados três casos não relacionados de crianças do sexo masculino com presença de microtrombocitopenia. Em dois casos havia a presença de infecções de repetição e eczema. Foram coletadas amostras de sangue periférico para extração do DNA genômico de *pod*/leucocitário dos pacientes e suas mães. A análise molecular foi realizada através do sequenciamento completo do gene da WASP utilizando sequenciador automático. **Resultados:** O caso 1 envolvia um menino de 4 anos de idade com história de hemorrágica leve desde os 9 meses de idade, sem história familiar de sangramento ou plaquetopenia. Ele apresentava contagem de plaquetas, variando de 23 x 10⁹/L a 208 x 10⁹/L e o volume plaquetário médio (VPM) era baixo variando em torno de 5,6-6,5 fL. Não apresentava nenhuma evidência de imunodeficiência ou eczema (WAS pontuação clínica de 1). Na análise molecular do gene WASP foi identificada uma mutação missense no éxon 2, resultando numa alteração de ácido p.Thr45Met. O caso 2 refere-se a um menino de 18 meses com plaquetopenia intensa (< 20 x 10⁹/L) e história hemorrágica grave com necessidade de transfusão de plaquetas recorrentes. Apresenta ainda imunodeficiência intensa e eczema

extenso. Na investigação molecular foi determinada a presença da mutação p.E133K no éxon 4 do gene da WASP. O caso 3 é de um menino de 6 meses de idade que apresenta desde o nascimento petéquias disseminadas e sangramento recorrente de trato gastrointestinal, com presença de microtrombocitopenia grave. Desde os 4 meses de idade apresenta eczema e infecções de repetição. A criança tem história de um irmão ter falecido aos 6 meses de idade com quadro semelhante de sangramento e infecções recorrentes. Na avaliação molecular do gene do WASP não foi possível até o momento a determinação da mutação associada, no entanto é possível afirmar que foram descartadas alterações dos éxons 1 ao 9. **Discussão:** A WAS envolve um espectro de manifestações clínicas incluindo plaquetopenia ou neutropenia leve até quadros graves de microtrombocitopenia, eczema, imunodeficiência, além de maior susceptibilidade às doenças autoimunes e câncer. Em geral as manifestações mais leves da síndrome estão associadas às mutações nos éxons 1 e 2 do gene da WASP e manifestações mais graves acometem as demais regiões do gene, como os casos aqui descritos.

0316

Importância do diagnóstico diferencial das macrotrombocitopenias associadas ao gene MYH9 na avaliação das plaquetopenias

Duarte VO, Siqueira LH, Colella MC, Orsi F, Paula EV, Annichino-Bizzacchi JM, Ozelo MC
Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: As macrotrombocitopenias hereditárias incluem um grupo de doenças caracterizadas pelo comprometimento no número de plaquetas circulantes e presença de megaplaquetas. Entre os casos com herança autossômica dominante estão incluídas as alterações associadas ao gene da cadeia pesada da miosina-9 (MYH9), incluindo a anomalia de May-Hegglin e as síndromes de Sebastian, de Fechtner e de Epstein. A presença de macrotrombocitopenia é comum a todas, podendo haver ainda dependendo do diagnóstico, a presença de inclusões em neutrófilos (corpúsculos de Döhle) e alterações não hematológicas, como catarata, perda auditiva e alteração renal. Devido à presença de plaquetopenia, estes casos são frequentemente diagnosticados como púrpura trombocitopênica autoimune (PTI). **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar os casos que apresentavam plaquetopenia e presença de megaplaquetas e determinar do ponto de vista fenotípico os casos sugestivos de macrotrombocitopenia associada ao gene MYH9. **Métodos:** Neste estudo foram avaliados pacientes em acompanhamento no Ambulatório de Hemostasia do Hemocentro da Unicamp (Campinas, SP) que apresentavam plaquetopenia com aumento do volume plaquetário médio (VPM > 10,6 fL). A confirmação da presença de megaplaquetas e a pesquisa de inclusões de neutrófilos foram realizadas através da análise do esfregaço do sangue periférico. Todos os casos foram avaliados quanto à presença de outras manifestações clínicas como catarata, alterações auditivas, comprometimento da função renal e história familiar de plaquetopenia. **Resultados:** Foram selecionados 20 pacientes com idade média de 29,1 anos (10 a 57), pertencentes a 16 famílias. Em pelo menos 8/20 casos o diagnóstico inicial foi de PTI e os pacientes foram tratados com imunossupressão por vários meses. Todos os casos incluídos apresentavam plaquetopenia, com número médio de plaquetas de $56 \times 10^9/L$ (11-90 $\times 10^9/L$) e VPM médio de 15,1 fL (8,2 a 17,7 fL). Na avaliação morfológica foi observado que todos apresentavam megaplaquetas e em pelo menos 13 casos mais de 20% das plaquetas contadas apresentavam diâmetro superior a 4µm. Em 9 casos de 5 famílias foi observado inclusões em neutrófilos. Em dois casos de uma mesma família havia a presença de disfunção renal, comprovando trata-se de síndrome de Fechtner. Outro caso apresentava perda auditiva e sem

inclusões de neutrófilo, com diagnóstico provável de síndrome de Epstein. Consideramos que 10/20 casos iniciais (6 famílias) o diagnóstico mais provável é macrotrombocitopenia associada ao gene MYH9. Estes casos estão sendo analisados para determinação de mutações neste gene. A avaliação fenotípica também deverá incluir a análise das ultraestruturas plaquetárias e de neutrófilos através da técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET) nos casos selecionados. **Conclusão:** As macrotrombocitopenias associadas ao gene MYH9 compreende um grupo heterogêneo de doenças. Seu diagnóstico correto através da avaliação cuidadosa da história clínica e familiar e da análise do esfregaço do sangue periférico é essencial para diferenciar de outras causas de plaquetopenias, como a PTI.

0317

Correlação clínica de três casos de síndrome de Wiskott-Aldrich com as mutações encontradas no gene da WASP

Siqueira LH¹, Colella MP¹, Bizzacchi JM¹, Paula EV¹, Vilela MM², Ozelo MC¹

¹ Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

² Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: A síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS) é uma doença recessiva ligada ao cromossomo X, em decorrência de mutações no gene da proteína (WASP) envolvida na transdução de sinalização celular ao citoesqueleto de actina. A forma clássica de WAS inclui a tríade de microtrombocitopenia, eczema e imunodeficiência. Mutações no gene da WASP também podem estar associadas a outras manifestações mais leves como a trombocitopenia ligada ao X (XLT) e a neutropenia ligada ao X (XLN). Neste estudo avaliamos duas manifestações clínicas da WAS e sua correlação com as mutações encontradas no gene da WASP. **Métodos:** Foram analisados três casos não relacionados de crianças do sexo masculino com presença de microtrombocitopenia. Em dois casos havia a presença de infecções de repetição e eczema. Foram coletadas amostras de sangue periférico para extração do DNA genômico de pool leucocitário dos pacientes e suas mães. A análise molecular foi realizada através do sequenciamento automático completo do gene da WASP. **Resultados:** O caso 1 envolvia um menino de 4 anos de idade com história de hemorrágica leve desde os 9 meses de idade, sem história familiar de sangramento ou plaquetopenia. Ele apresentava contagem de plaquetas, variando de $23 \times 10^9/L$ a $208 \times 10^9/L$ e o volume plaquetário médio (VPM) era baixo variando em torno de 5,6-6,5 fL. Não apresentava nenhuma evidência de imunodeficiência ou eczema (WAS pontuação clínica de 1). Na análise molecular do gene WASP foi identificada uma mutação missense no éxon 2, resultando numa alteração do aminoácido p.Thr45Met. O caso 2 refere-se a um menino de 18 meses com plaquetopenia intensa ($< 20 \times 10^9/L$) e história hemorrágica grave com necessidade de transfusão de plaquetas recorrentes. Apresenta ainda imunodeficiência intensa e eczema extenso. Na investigação molecular foi determinada a presença da mutação p.E133K no éxon 4 do gene da WASP. O caso 3 é de um menino de 6 meses de idade que apresenta desde o nascimento petéquias disseminadas e sangramento recorrente de trato gastrointestinal, com presença de microtrombocitopenia grave. Desde os 4 meses de idade apresenta eczema e infecções de repetição. A criança tem história de um irmão ter falecido aos 6 meses de idade com quadro semelhante de sangramento e infecções recorrentes. Na avaliação molecular do gene do WASP não foi possível até o momento a determinação da mutação associada, no entanto é possível afirmar que foram descartadas alterações dos éxons 1 ao 9. **Discussão:** A WAS envolve um espectro de manifestações

clínicas incluindo plaquetopenia ou neutropenia leve até quadros graves de microtrombocitopenia, eczema, imunodeficiência, além de maior susceptibilidade às doenças autoimunes e câncer. Em geral as manifestações mais leves da síndrome estão associadas às mutações nos exons 1 e 2 do gene da WASP e manifestações mais graves acometem as demais regiões do gene, como os casos aqui descritos.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: TROMBOSE

0318

Fibrinogen beta-chain haplotypes are associated with primary recurrent pregnancy losses

Bertinato JF¹, Gomes GW¹, Boacnin MD¹, Cerda A¹, Carvalho MH², Amorim-Filho AG², Zugaib M², Guerra-Shinohara EM¹

¹ Department of Clinical and Toxicological Analyses – FCF, Universidade de São Paulo – USP, SP

² Departament of Obstetrics and Gynecology, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FM-USP, SP

Introduction: Recurrent pregnancy loss (RPL) is defined by the presence of three or more consecutive spontaneous fetal losses prior to the 20th week of pregnancy. RPL is a multifactorial condition in which 40 to 50% of cases remain unexplained. Normal pregnancy may be considered a hypercoagulable state and some genetic factors such as polymorphisms in fibrinogen, factor II and factor V genes can exacerbate this state and contribute to RPL. **Aims:** To investigate the frequencies of polymorphisms in fibrinogen beta chain gene (*FGB* 455G>A and *FGB* 148C>T), factor V (*F5* 1691G>A (Leiden)) and factor II (*F2* 20210G>A), and haplotypes in *FGB* gene in women with primary RPL and in health women. **Methods:** One hundred and seventeen non-pregnant women with three or more consecutive losses prior to 20th week of pregnancy without carrying a fetus to viability (primary RPL) (study group) and 264 healthy fertile non-pregnant women who had at least two children and no known pregnancy losses (control group) were studied. The genotypes for *FGB* 455G>A and *FGB* 148C>T polymorphisms were performed by Real Time PCR, and genotypes for *F5* 1691G>A and *F2* 20210G>A polymorphisms were performed by RFLP-PCR. Haplotype frequencies and the standardized disequilibrium coefficient (D') for pair-wise linkage disequilibrium were assessed by the Expectation-Maximization (EM) algorithm using the Haploview Software, and we considered linkage disequilibrium when D'≥0.50. Results and **Conclusions:** The genotype and allele frequencies for *FGB* 455G>A, *FGB* 148C>T, *F5* 1691G>A and *F2* 20210G>A polymorphisms were similar in both groups (p>0.050). Furthermore, *FGB* 455G>A was in strong linkage disequilibrium with *FGB* 148C>T (D'=1.0 and r²=0.854). Interestingly, the analysis of haplotypes showed that the GT haplotype for *FGB* 455G>A/*FGB* 148C>T SNPs was more frequent in cases (3.4%) than in controls (1.1%), (P= 0.030). This finding shows that the haplotype GT for *FGB* 455G>A/*FGB* 148C>T is associated with RPL. Financing: FAPESP (Proc 2007/57605-0), CAPES

0319

Coagulation factor XIII Tyr204Phe gene polymorphism and ischemic stroke

Landau MB, Campanate GS, Zalis M, Spector N, Gadelha T

Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

Background: The presence of a gene variant in the subunit A1 of the coagulation factor XIII (factor XIII A1 Tyr204Phe) was previously described as strongly associated with ischemic stroke (IS), with a 9-fold increased risk. This risk was further increased in carriers of Phe allele who were using oral contraceptives (20-fold). These results, however, have not been confirmed in other studies. **Aims:** To investigate the risk of the factor XIII A1 Tyr204Phe variant in a sample of Brazilian patients with IS in a case-control study. **Methods:** 220 IS patients referred to our service and 220 controls were included. All cases were tested for factor XIII A1 Tyr204Phe variant by polymerase chain reactions with fluorescent allele-specific oligonucleotide probes. Risk factors for IS as obesity, hypertension, diabetes mellitus, current smoking, dyslipidemia and contraceptive use were also recorded. Exclusion criteria were cardioembolic events, malignancy or chronic inflammatory diseases. **Results:** The average age was 38 years (18 to 70) and were there more women (64%) than men. Arterial hypertension (35% x 11%), diabetes mellitus (9% x 3%), smoking (25% x 15%) and dyslipidemia (47% x 34%) were more frequent among cases than controls. The frequencies of obesity (8% x 9%) and estrogen use (30% x 26%) were similar in the two groups, and not related to IS (OR=0,9; CI 0,48-1,72; p=0,7) and (OR=1,2; CI 0,8-1,9; p=0,35) respectively. Arterial hypertension was the stronger risk factor for IS (OR=4,27; CI 2,5-7,0; p=0,001); diabetes mellitus (OR=3,37; CI 1,3-8,7; p=0,01), smoking (OR=1,9; CI 1,2-3,1; p=0,01) and dyslipidemia (OR=1,7; CI 1,1-2,7; p=0,02) were also related to IS. The prevalence of FXIII Tyr204Phe genotype were not different in cases and controls (2% x 3,6%, OR 0,6; 95% CI, 1,2-1,9 and p=0,4). No homozygosity (Phe204Phe) was found in cases or controls. **Conclusion:** Our results could not confirm the factor XIII A1 Tyr204Phe polymorphism as a risk factor for IS among Brazilian patients. The prevalence of this polymorphism in 220 of individuals without history of IS was 3.5%, a lower prevalence than previously described. The factor XIII A1 Tyr204Phe variant does not seem to be a major risk factor for IS in this population.

0320

Prevalência de anticorpos antifosfolípedes e sua correlação com morbidade gestacional na Rede Hospitalar do Distrito Federal

Freitas LF, Piazeria FZ, Amorim TM, Xavier MA, Causanilhas AC, Lima D, Holanda MM

Fundação Hemocentro de Brasília - FHB, Brasília, DF

Introdução: A Síndrome Antifosfolípide (SAF) é caracterizada pela ocorrência de trombose, trombocitopenia ou de morbidade gestacional, associada à presença de algum anticorpo antifosfolípide: anticoagulante lúpico (LAC), anticardiolipina (ACA) ou antiβ₂-glicoproteína I (aβ₂GPI), segundo os critérios de Sapporo. O LAC é o principal anticorpo relacionado à ocorrência de trombose, mas os demais anticorpos também se relacionam a eventos trombóticos de forma independente. **Objetivos:** Avaliar a presença dos anticorpos antifosfolípedes em pacientes com achados laboratoriais sugestivos SAF da rede hospitalar do Distrito Federal. **Métodos:** Estudo retrospectivo que identificou a presença de anticorpos antifosfolípedes nos exames laboratoriais de 299 pacientes investigados no Laboratório de Hemostasia da Fundação Hemocentro de Brasília, no período de 03 de fevereiro de 2011 a 31 de maio de 2012. Todos os pacientes foram encaminhados pela rede hospitalar do DF, e os exames foram realizados em amostras de plasma congelado. A pesquisa do LAC foi realizada pelo método coagulométrico com o veneno de víbora de Russel, do laboratório Instrumentation Laboratory Company. Para a pesquisa de ACA (IgG ou IgM) e de anticorpos aβ₂GPI, foram utilizados os ensaios imunoenzimáticos do laboratório Corgenix. A análise das variáveis foi realizada com os testes de Fisher e Mann-Whitney, com o cálculo de

sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN). **Resultados:** Foram 299 amostras de pacientes analisadas, dos quais 83 (27,7%) do sexo masculino e 216 (72,2%) do sexo feminino. Foram classificados como portadores SAF, de acordo com os critérios de Sapporo, 44 (14,7%) pacientes, com mediana de idade de 34,9 anos; para os pacientes sem SAF, a mediana de idade foi de 31,4 anos. A morbidade gestacional foi a causa da investigação em 27,4% das mulheres. Trombose venosa ocorreu em 44,8% pacientes; trombose arterial ocorreu em 24,4% dos pacientes. Outras indicações de investigação foram: plaquetopenia (2 pacientes) e histórico familiar de trombose (8 pacientes). A prevalência do LAC foi de 79,5% dentre os portadores de SAF, com VPP de 78,5% e VPN de 86,2%. O ACA IgG esteve presente em 11,3% dos pacientes, com VPP de 35,7% e VPN de 86,1%. A prevalência de ACA IgG foi superior entre os portadores de SAF (15,2% versus 4,9%, $p=0,045$). O a β 2GPI apresentou prevalência de 14%, com sensibilidade de 27,6% e especificidade de 82,6%. A presença de LAC correlacionou-se fortemente com morbidade gestacional ($p=0,031$). Os pacientes com SAF apresentaram maior prevalência de trombose venosa quando comparada a arterial (61,4% versus 42%, $p=0,014$). **Discussão:** O estudo avaliou a prevalência de anticorpos antifosfolípides na população atendida na rede hospitalar DF. Identificamos um subgrupo de pacientes com elevada morbidade gestacional, configurando a maior amostra já estudada no Brasil. A presença de anticorpos antifosfolípides confirmou-se como de alto risco para a ocorrência de trombooses, tanto venosa quanto arterial. O ACA IgG correlacionou-se fortemente com o diagnóstico de SAF e apresentou elevadas sensibilidade e especificidade. Os pacientes com o diagnóstico de SAF nesse estudo apresentam perfil de positividade de anticorpos antifosfolípides semelhantes ao relatado na literatura.

0321

Avaliação de dois reagentes de TTPA, usados em rotina laboratorial, em relação ao seu desempenho para detecção do anticoagulante lúpico

Colangelo LM, Oliveira PD, Pintao MC

Grupo Fleury, São Paulo, SP

O tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) é amplamente usado para triagem de deficiência de fatores da via intrínseca e comum da coagulação, monitoramento do tratamento com heparina não fracionada e investigação do anticoagulante lúpico (AL). Os reagentes utilizados para realização do TTPA são a mistura de um ativador da via intrínseca (p. ex.: sílica, ácido elágico, kaolin, etc.) e fosfolípidos, que podem variar em composição e concentração. A sensibilidade do reagente do TTPA à presença do AL é variável e depende das características tanto do reagente quanto do AL. Idealmente, o reagente utilizado na rotina laboratorial deve permitir a detecção de deficiência de fatores (abaixo de 30% de atividade) e da presença de AL. Para a confirmação da presença do AL, a Sociedade Internacional de Hemostasia e Trombose (*International Society of Thrombosis and Haemostasis*, ISTH) recomenda uma sequência de testes com diferentes reagentes, realizada neste laboratório quando solicitado especificamente investigação de AL. Neste estudo, avaliamos o desempenho de dois reagentes de TTPA, usados na rotina laboratorial, em relação à detecção de AL: o STA[®] PTT, que usa a sílica como ativador e é usado na rotina deste laboratório; e o STA-Cephascreen[®], que usa o ácido elágico como ativador (ambos, Diagnóstica Stago, Asnières, France). O TTPA foi determinado em segundos e a relação paciente/controlado (p/c) calculada através da divisão do resultado do paciente pelo resultado da média aritmética de vinte doadores normais. Quando a relação p/c estava acima do valor de referência do laboratório (determinado com 120 amostras de indivíduos normais), o TTPA era repetido após a mistura da amostra do paciente com pool de plas-

mas normais (50: 50). O resultado foi interpretado como "triagem-positiva" quando não houve normalização da relação p/c após a mistura. Foram testadas 218 amostras consecutivas, encaminhadas especificamente para investigação de AL. Além da realização de investigação do AL, estas amostras foram testadas com o reagente STA[®] PTT e STA-Cephascreen[®], conforme descrição acima. Das 218 amostras testadas, 11 eram positivas para o AL pelo teste recomendado pelo ISTH. No teste com STA[®] PTT, 43 amostras tiveram resultado prolongado, das quais 11 eram positivas. No teste com STA-Cephascreen[®], 48 amostras tiveram resultado prolongado, das quais 10 eram positivas. Uma das amostras positivas para o AL não foi detectada pelo STA[®] Cephascreen. A sensibilidade do STA[®] PTT foi de 100% para detecção do AL e a especificidade foi de 84,5%. Com o STA-Cephascreen[®], a sensibilidade para detecção de AL foi de 90,9% e a especificidade de 81,6%. Como esperado, ambos os reagentes tiveram baixo valor preditivo positivo (25,6% e 21%, respectivamente). O valor preditivo negativo do STA[®] PTT foi de 100% e o do STA-Cephascreen[®] foi de 99,4%. Outros testes serão necessários para melhor caracterização destes reagentes em relação ao seu desempenho para detecção de deficiência de fatores da coagulação. Contudo, os Resultados do presente estudo, sugerem que o reagente STA[®] PTT, é superior ao STA-Cephascreen[®] para detecção do AL, características relevantes em um teste usado como triagem laboratorial.

0322

Síndrome mieloproliferativa e trombofilias associadas: um relato de caso

Bastos FQ, Colombo ES, Marconi T, Suganuma L, Fonseca GH, Gualandro SF, Villaa PR, Amico EA

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: As Síndromes Mieloproliferativas (SMP) caracterizam-se como doenças clonais das células progenitoras hematopoéticas. Ainda que de evolução insidiosa e comportamento benigno, suas principais manifestações e morbidade estão relacionadas aos eventos trombóticos venosos e arteriais, além de outras alterações da hemostasia. **Objetivos:** Relatar um caso de Síndrome de Budd-Chiari no contexto de múltiplas trombofilias e Síndrome Mieloproliferativa. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, 20 anos, deu entrada no serviço de Hematologia Geral em dezembro de 2011. À admissão contava dor e aumento do volume abdominal insidiosos no último ano. Ao exame físico apresentava abdome tenso, com submacicez-móvel positiva e com baço na cicatriz umbilical. O ultrassom-Doppler comprovou trombose da veia porta e do ramo direito da veia hepática, confirmando o diagnóstico de Síndrome de Budd-Chiari. Optou-se, assim, por iniciar investigação para SMP e trombofilias. Observou-se Fator V de Leiden positivo em heterozigose, *JAK2* positiva em heterozigose e anti-beta 2 glicoproteína IgG positiva. Demais exames comprovaram insuficiência hepática, com TP= 37% e fator V de 24%. O mielograma mostrou-se hiperlobado às custas das três séries, com megacariócitos hiperlobados. A reação de Perls revelou ferro medular ausente, sem sideroblastos em anel. O cariótipo era 46 XX. Finalmente, a biópsia de medula mostrou-se compatível com Síndrome Mieloproliferativa. No decorrer do seu seguimento a paciente evoluiu com episódio de hemorragia digestiva alta, sendo submetida à escleroterapia. Encontra-se em tratamento atual com omeprazol, propranolol, enoxaparina e sulfato ferroso, estável, e sem novos episódios de trombose identificados. **Discussão:** As Síndromes Mieloproliferativas estão intimamente relacionadas aos eventos trombóticos do território esplâncnico. Muitas vezes este grupo de doenças é subdiagnosticado nos pacientes que exibem esta rara e severa forma de fenômeno vaso-oclusivo. Curiosamente, sabe-se que portadores de SMPs são mais propensos a trombose esplânc-

nica do que trombose venosa profunda de sítios classicamente observados. Muito provavelmente existem fatores ainda pouco estudados envolvidos nos mecanismos de coagulação e fibrinólise que justificam essa observação. Acredita-se que um deles seja a mutação *JAK2 V617F*, que estaria implicada com múltiplas alterações da função endotelial além da ativação celular, culminando com estados de hipercoagulabilidade. Nesse contexto, as SMPs devem ser reconhecidas como estado de hipercoagulabilidade adquirida, e, portanto, tais pacientes devem ser atentamente seguidos quanto ao risco aumentado para tromboembolismos. **Conclusão:** Trata-se de uma paciente portadora de Síndrome Mieloproliferativa curiosamente associada a múltiplas trombofilias. Por ser uma paciente jovem optou-se pela investigação de trombofilias, apesar da história familiar ser negativa e do impacto dessas alterações ser pequeno na recorrência de eventos trombóticos. Este caso incomum foi relatado com o intuito de ressaltar a importância dos eventos trombóticos e demais alterações da hemostasia em pacientes portadores de SMP, cuja morbidade pode ser determinante para sua evolução clínica. O manejo de pacientes hepatopatas é um verdadeiro desafio, uma vez que anticoagulação, necessária e indicada neste contexto, pode precipitar eventos hemorrágicos.

0323

Avaliação comparativa entre os testes de Dímero-D látex de alta especificidade e o padrão na avaliação do risco de recidiva do tromboembolismo venoso

Quaino SK, Montalvão S, Orsi FL, Paula EV, Bizzachi JM

Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: D-Dímero(DD) atualmente o teste laboratorial de escolha para avaliação do risco de recidiva do tromboembolismo venoso(TEV). Pacientes que apresentam DD acima do valor de corte, após término do tratamento anticoagulante, têm pelo menos o dobro do risco de recidiva que pacientes com DD normal e podem se beneficiar com anticoagulação prolongada. Entretanto, há grande variabilidade entre Resultados de DD gerados por diferentes metodologias, sendo que Métodos quantitativos, como o imunoturbidimétrico com látex e ELISA, são considerados mais sensíveis. Em nosso laboratório temos padronizado o teste imunoturbidimétrico Innovance™ DDimer (Siemens Healthcare, Marburg, Alemanha). Recentemente, foi lançado no mercado o HemosIL™ D-Dimer High Specificity (DDHS) 500 (IL, Milano, Italy), cujo reagente látex é coberto com anticorpo de alta especificidade, que poderia reduzir o número de falsos positivos gerados pelo teste padrão. Desta forma, avaliação da concordância entre os testes é garantida dada a importância dos Resultados para manejo clínico dos pacientes pós-TEV. **Objetivo:** Comparar o reagente comercial DDHS 500 com Innovance™ DDimer, padrão do laboratório para avaliação do risco de recidiva nos pacientes com TEV. **Métodos:** A quantificação do DD foi realizada no plasma de 24 pacientes com TEV, um mês após término da anticoagulação oral, pelos testes imunoturbidimétricos: Innovance DDimer e DDHS. A concordância entre Resultados obtidos pelos dois testes foi avaliada estatisticamente pelos testes de correlação de Pearson e Bland-Altman. Possíveis diferenças na conduta clínica, orientadas por Resultados divergentes de DD entre testes, também foram avaliadas e a concordância determinada pelo coeficiente de Kappa. **Resultados:** O valor de corte, informado pelos fabricantes, para ambos os testes é 500ng/ml. Nos pacientes estudados, o valor médio do DD determinado pelo DDHS foi 788,7ng/ml (des.padrão=850,1) e pelo Innovance DDimer foi 882,1ng/ml (des.padrão=897,0). A correlação entre Resultados dos dois testes foi de 96%(IC95%, 1 a 98,3%; P<0,0001). O viés entre os testes foi 93,48ng/ml (des.padrão=246,9ng/ml).

Observou-se, porém, aumento progressivo do viés para valores acima do valor de corte, com os Resultados gerados pelo teste padrão sempre acima dos gerados pelo DDHS. Os dois testes apresentaram concordância de 100% na determinação de pacientes com DD acima e abaixo do valor de corte, não havendo discrepância na interpretação clínica dos Resultados gerados pelos testes. **Conclusão:** os Resultados obtidos pelo DDHS mostraram boa concordância com os obtidos pelo Innovance DDimer, não levando a condutas clínicas divergentes. Porém, a reprodutibilidade dos Resultados do DD foi menor para valores acima de 500ng/ml. Até o momento, apenas a informação do aumento qualitativo acima do valor de corte do DD é necessária para a avaliação do risco de recidiva do TEV e para este fim, o DDHS 500, apesar de mais específico, não se mostrou melhor que o padrão. Porém, houve tendência dos valores gerados pelo Innovance DDimer ficarem acima dos gerados pelo DDHS 500. Desta forma, se novas estratificações de risco requererem quantificação dos níveis de DD, possivelmente os valores elevados do teste padrão poderiam mais frequentemente gerar Resultados falso-positivos ou Resultados supervalorizados, devendo então ser reavaliados.

0324

Von Willebrand factor and its proteolytic enzyme ADAMTS-13 behavior during the natural menstrual cycle

Travisani B¹, Margarido PF², Lopes AA^{1,3}, Bydlowsky SP¹, Maeda NY^{1,4}, Soares RP^{1,4}

¹ Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP, SP

² Departamento de Ginecologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP, SP

³ Instituto do Coração - InCor, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - HC-FMUSP, São Paulo, SP

⁴ Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP

Background: Hemostasis is achieved by a complex interaction between different molecules and pathways, which are in a delicate balance between production and breakdown of thrombus. The basic mechanisms of coagulation system in natural menstrual cycle are not well understood, but endothelial dysfunction, hemostatic abnormalities and platelet activation may be underlying factors causing hypercoagulability and thromboembolism. Von Willebrand factor (VWF) is a large multidomain glycoprotein with functions that are critical for normal hemostasis. The multimeric size and the function of circulating VWF are modulated via proteolytic cleavage by a plasma metalloproteinase called ADAMTS-13. VWF and ADAMTS-13 are the major determinants of platelet adhesion after vessel injury. **Purpose:** The present study was performed to evaluate VWF and ADAMTS-13 in natural menstrual cycle of healthy women. **Study design and Methods:** Healthy female volunteers were enrolled, all in fertile age (20-40 years), with history of regular menstruations and refrain from the use of contraceptive pills for three months prior to participate in the study. Blood was sampled 4 times during the menstrual cycle (follicular phase (FP), preovulatory phase (PP), ovulatory phase (OP) and luteal phase (LP)). Blood was collected in 3,2% sodium citrate for analysis of plasma VWF antigen (VWF: Ag), VWF biological activity (VWF: CB), ADAMTS-13 antigen (ADAMTS-13: Ag) and ADAMTS-13 activity. We used enzyme-linked immunoassays and collagen-binding assays to analyze antigenic and biological activities of VWF and ADAMTS-13. Luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), estradiol and progesterone were analyzed by radioimmunoassay. **Results:** Nine volunteers were enrolled (median age 24 years) and all of them ovulated during the study cycle according to the criteria for normal ovulation. Progesterone LP level was 9ng/mL (median) and estradiol median levels at LP and FP were 43pg/mL and 118pg/mL, respectively. Luteinizing hormone median levels at OP and

FP were 19 and 41IU/L, respectively. Significant differences in ADAMTS-13: Ag levels were observed between the phases of menstrual cycle. Median levels and range were 1.13 ng/mL (0.16-1.40 ng/mL), 1.21 ng/mL (0.13-1.43 ng/mL), 1.04 ng/mL (0.12-1.34 ng/mL) and 1.23 ng/mL (0.12-1.49ng/mL) respectively at FP, PP, OP and LP, $p=0.002$. The levels of VWF: Ag and VWF: CB varied considerably during cycle phases. VWF: Ag was 97 ± 27 , 107 ± 22 , 94 ± 12 and 112 ± 22 U/dL respectively at FP, PP OP and LP, $p=0.586$ and VWF: CB was 72 ± 16 , 67 ± 14 , 65 ± 16 and 76 ± 21 U/dL respectively at FP, PP OP and LP, $p=0.145$. **Conclusions:** In the present study, we observed changes in VWF proteolytic enzyme ADAMTS-13 at different stages of natural menstrual cycle. Lowest ADAMTS-13: Ag levels at OP could be associated with limited VWF cleavage in this phase, leading to increased risk of thrombotic events. These results suggest the importance to study plasma levels of VWF and ADAMTS-13 in women before the use of contraceptives, hormone replacement therapy and assisted reproduction techniques (which the most common procedure is the ovarian stimulation). Further studies are needed to understand the relationships between hormones, VWF and ADAMTS-13 over the menstrual cycle.

0325

VWF antigenic and structural characteristics in primary antiphospholipid syndrome: a preliminary study

Ajala FV¹, Gomes NR¹, Nascimento NM¹, Seguro LP², Lopes AA^{1,3}, Bydlowsky SP¹, Soares RP^{1,4}

¹ Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP, SP

² Departamento de Reumatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP, SP

³ Instituto do Coração - InCor, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - HC-FMUSP, São Paulo, SP

⁴ Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP

Background: Antiphospholipid syndrome (APS) is characterized by vascular thrombosis and/or pregnancy morbidity, in association with antiphospholipid antibodies (aPL). The presence of aPL is associated with the development of venous and arterial thrombosis. Many procoagulant mechanisms have been investigated, but a single unifying pathogenic mechanism needs to be determined. One proposed mechanism for this unusual prothrombotic state is the activation of endothelial cell by aPL. Von Willebrand factor (VWF) is an endothelial and platelet glycoprotein that circulates in plasma as large multimers. The multimeric composition of VWF involves low (LMW), intermediate (IMW) and high molecular weight (HMW) forms. The multimeric VWF size are modulated by metalloproteinase called ADAMTS-13. The protein functions as an adhesion molecule to bind platelets at sites of vascular damage. VWF is also the carrier protein of FVIII. During the last decade, parameters have been proposed to investigate endothelial cell disturbance in patients with APS, and in this way, VWF could be used as a marker for endothelial activation. **Purpose:** To investigate plasma concentration and the multimeric structure of VWF in subjects with primary APS. Study design and **Methods:** Fifteen patients were enrolled. Patients were from the Department of Rheumatology, Hospital das Clínicas, University of São Paulo Medical School. Caucasian unrelated healthy volunteers were included as controls (N=15). Patients were submitted to standard anticoagulant treatment with warfarin. All patients had primary disease according to the Sidney criteria. Anti-cardiolipin and anti- $\beta 2$ GPI (IgG and IgM) antibodies were measured using an "in-house" enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Plasma von Willebrand factor antigen (VWF: Ag) was determined by ELISA. The multimeric composition of VWF was analyzed after Western immunoblotting, immunolocalization and luminography. **Results:** Fifteen patients aged 42 + 11 years (12 female and 3 male) were enrolled. Despite the absence of

difference in circulating VWF: Ag between patients and controls (respectively 79 ± 16 U/dL and 72 ± 14 U/dL), patients seemed to have an abnormal composition of VWF multimers. In patients, VWF: HMW/total ratio was decreased compared to controls, (respective median values and range of 6 (3 – 15%) and 12 (4 – 30%)), while the relative concentration of VWF: IMW/total was increased (respective median values and range of 36 (14 – 44%) and 25 (11 – 44%)). The values of the hematocrit and platelet count were within the acceptable physiologic range. **Conclusion:** This preliminary study suggests an ongoing process of pathological VWF cleavage, which may be associated with its binding to cellular membranes at sites of endothelial injury. This fact could be central in the development of thrombosis in APS. Obviously, adequately powered studies are needed to further investigate differences in VWF and ADAMTS-13 antigenic and biological activities.

0326

Avaliação do desempenho e valor diagnóstico do teste de sílica Clotting Time (HEMOSIL) na investigação laboratorial do anticorpo anticoagulante lúpico

Quaino SK, Montalvão S, Bizzachi JM, Colella MP, Orsi FL, Paula EV

Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: a detecção laboratorial do anticoagulante lúpico (AL) permanece um desafio, uma vez que inúmeras variáveis podem interferir com o ensaio utilizado. Além de variáveis pré-analíticas, outros fatores como o tipo de fosfolípido e ativador, os valores de corte utilizados e até mesmo a interpretação dos Resultados influenciam a performance destes testes, tornando sua realização um desafio importante para laboratórios de hemostasia. O Sílica Clotting Time é um teste para diagnóstico de AL que consiste em um sistema pareado de cefalinas micronizadas com concentrações de fosfolípidios diferentes, cujo resultado é a relação entre a SCT "Screening" e SCT confirmatório. **Objetivo:** o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho e sensibilidade do Hemosil™ Sílica Clotting Time para detecção de AL, usando como referência a metodologia e reagentes padronizados em nosso laboratório. **Métodos:** a avaliação laboratorial para a detecção do AL foi realizada seguindo critérios definidos pelo ISTH com a utilização de dois testes com princípios diferentes TTPa (Pathromtin® SL, Siemens Healthcare) e DRVVT (LA1 e LA2 Reagent, Siemens Healthcare) em um total de 110 amostras, incluindo 21 amostras positivas (presença de AL) e 89 controles. Dentre os controles, 24 amostras eram pacientes com suspeita clínica de SAAF, e 65 doadores saudáveis. As amostras de 25 doadores foram ainda usadas para determinação de valores de normalidade e cut-off para o teste SCT e para os testes TTPa e DRVVT foram utilizados valores já estabelecidos pelo laboratório. A sensibilidade e especificidade dos reagentes foi analisada através da curva ROC. **Resultados:** Das 21 amostras que apresentavam resultado positivo para a presença de AL pela metodologia padrão (TTPa + DRVVT), 11/21 (52%) apresentavam resultado positivo para AL utilizando o SCT isoladamente. Além disso, a presença de AL foi considerada positiva pelo SCT em 7/24 amostras (29%) cujo resultado fora negativo pela metodologia padrão. A utilização do SCT em conjunto com o DRVVT foi capaz de detectar 100 % dos AL nas amostras originalmente positivas, e em 29% das negativas respectivamente. Um achado importante é que todas as 10 amostras que foram positivas para DRVVT e negativas para o SCT apresentavam positividade fraca no DRVVT. A análise da acurácia diagnóstica do TTPa e do SCT foi avaliada através das curvas ROC. **Conclusão:** Nossos dados mostram que mesmo diante de um grupo de amostras que inclui pacientes com Resultados positivos e limítrofes, a metodologia avaliada para detecção de AL (SCT

Hemosil IL) apresenta sensibilidade e especificidade adequadas e comparáveis aos reagentes utilizados rotineiramente em nosso laboratório, podendo ser acrescentado ao arsenal de técnicas disponíveis para diagnóstico laboratorial dos AL.

0327

Estudo das plaquetas e dos novos índices plaquetários

Sousa CC¹, Bezerra CM², Mendes DH², Santos AS³, Máximo AC³, Silva FE³, Ferreira LC³, Alencar MF³, Sena MA³, Dias MB³

¹ Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE, Fortaleza, CE

² Hospital Geral César Cals de Oliveira – HGCCO, Fortaleza, CE

³ Faculdade de Tecnologia Intensiva – FATECI, Fortaleza, CE

Introdução: As plaquetas são elementos importantes na hemostasia, principalmente na fase inicial, graças às suas propriedades de adesão e agregação, formando o tampão hemostático no local da lesão vascular. Foram primeiramente descritas, em 1822, como corpúsculos distintos e seu papel na coagulação e trombose. Atualmente, está bem estabelecida a sua definição como fragmentos citoplasmáticos dos megacariócitos da medula óssea. Durante muito tempo, os estudos plaquetários limitavam-se à contagem do número total e referências à sua morfologia. Com o desenvolvimento dos analisadores hematológicos automatizados, desenvolvidos desde o final da década de 60, tornou-se possível a mensuração automática de outros parâmetros relacionados às plaquetas. Pois esses instrumentos determinam, não somente o número total de plaquetas, mas também alguns valores, desses, vêm merecendo destaque o volume plaquetário médio (VPM), por se tratar de um marcador biológico da função e atividade plaquetária. **Objetivo:** Realizar revisão bibliográfica a cerca dos índices plaquetários, avaliando sua utilidade no diagnóstico e estadiamento de doenças vasculares e outras patologias. **Métodos:** Estudo qualitativo, de caráter exploratório, realizado no período de junho a novembro de 2011 através de consultas aos acervos contidos no PubMed, Bireme, SciELO, NCBI, dentre outros, a cerca da temática em estudo. **Resultados:** Por muito tempo, o estudo das plaquetas ficou limitado à análise dos valores totais no sangue periférico, relacionando-se à trombose e hemostasia. Porém, atualmente os estudos indicam que as plaquetas têm papel importante em diversas doenças vasculares. Notadamente, doença arterial coronariana, doenças mieloproliferativas, diabetes, pré-eclâmpsia, doença intestinal inflamatória, dentre outras. Plaquetas grandes na circulação, evidenciadas pelos valores elevados do volume plaquetário médio (VPM), levam a uma maior agregação e facilitam a formação do trombo, mostrando ser fator de risco para infarto do miocárdio e para o aparecimento de obstrução arterial na angina instável. **Conclusão:** Os índices plaquetários, associados à contagem das plaquetas, permitem a detecção de anormalidades plaquetárias, sendo importantes no diagnóstico e estadiamento de distúrbios hematológicos e em muitas outras patologias.

0328

Evaluation of coagulation and inflammatory markers in patients with venous thromboembolism

Bittar LF, Fonseca BM, Orsi FL, Paula EV, Annichino-Bizzacchi JM

Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introduction: Venous thromboembolism (VTE) is a multifactorial disease, and increased levels of coagulation factor VIII (FVIII) has been demonstrated as a risk factor. Inflammatory processes may

play a key role in venous thrombosis by inducing a procoagulant state through the action of cytokines and chemokines on monocytes and endothelial cells. The role of inflammation process in the initiation and evolution of venous thromboembolism is not well understood yet. The aim of the study was to evaluate some coagulation and inflammatory markers in VTE patients. **Design and Methods:** Between March 2009 and June 2011, 385 consecutive patients with treated VTE were attended at Hematology Center of Campinas. The study comprised 71 patients with deep venous thrombosis (DVT) of the lower limbs or pulmonary embolism. We excluded patients with DVT at unusual sites, younger than 18 years old or older than 70 years old, those with cancer, chronic liver, renal or inflammatory disease, antiphospholipid antibody syndrome, natural anticoagulant deficiency. Healthy adult individuals were chosen as controls. FVIII levels were measured by a one-stage clotting assay. D-dimer levels were performed by immunoturbidimetric analysis. VWF: Ag, interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). C-reactive protein (CRP) levels were determined by a nephelometric method. The presence of post-thrombotic syndrome (PTS) was evaluated and classified by the Villalta scale. **Results:** Seventy-one patients with VTE (23M: 48F) with a median age of 44 years (range 20-70) were included in the study. The control group consisted of 67 subjects (23M: 44F) with a median age of 42 years (range 22-70 years). VTE was spontaneous in 41 (57.7%) patients and secondary to an acquired risk factor in 42.3%. Patients with VTE had higher plasma levels of FVIII: C (146.2 IU/dL vs. 105.4 IU/dL; $p < 0.001$), VWF: Ag (150.3 IU/dL vs. 110.7 IU/dL; $p < 0.001$) and D-dimer (0.46 mg/L vs. 0.30 mg/L; $p < 0.001$) compared to controls. Furthermore, the inflammatory markers IL-6 (1.19 pg/mL vs. 0.98 pg/mL; $p < 0.001$) and TNF- α (2.27 pg/mL vs. 1.57 pg/mL; $p < 0.001$) also was higher in patients when compared with controls. No significant difference of CRP and IL-8 levels between patients and controls was observed. Patients with PTS showed higher levels of IL-8 when compared with patients without PTS (23.03 pg/mL vs. 18.20 pg/mL; $p = 0.04$). Patients with moderate or severe PTS (176.3 IU/dL) showed higher levels of VWF when compared with patients without PTS (137.8 IU/dL) or mild PTS patients (132.7 IU/dL); $p = 0.04$. In a linear regression univariate model, FVIII levels of VTE patients showed association with VWF, D-dimer, IL-6, TNF- α and CRP levels. So, these parameters associated with FVIII were evaluated in a linear regression multivariate model, and VWF and IL-6 levels were independent factors associated with FVIII levels ($p < 0.001$). **Conclusions:** Our results show that patients with previous VTE have increased levels of coagulation and inflammatory markers even long time after the acute episode. Moreover, there seems to be a relationship between moderate/severe post-thrombotic syndrome and increased levels of VWF. A possibility is that in moderate and severe PTS, the vascular injury stimulates a increased endothelial cell secretion of VWF.

0329

Increased ADAMTS13 activity in patients with venous thromboembolism

Mazetto BM, Orsi FL, Barnabé A, Paula EV, Flores-Nascimento M, Annichino-Bizzacchi JM

Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introduction: Increased levels of inflammatory markers and clotting factors are related to the pathogenesis of VTE. The inverse relation between VWF and ADAMTS13 activity was previously described in patients with arterial thrombosis. VWF levels are known to be increased during inflammatory processes and could play a role linking the inflammatory and coagulation systems activities in VTE patients. **Objective:** To evaluate the activity of ADAMTS13

and VWF in VTE patients and its association with inflammatory markers and clinical outcome of post-thrombotic syndrome. Seventy-seven VTE patients, 7 months to six years after the acute episode, attended at the Hemocentro de Campinas/UNICAMP, were included and 77 healthy controls matched by gender, age, ethnicity and blood group. The activity of ADAMTS13 was performed by VWF collagen binding, D-dímer by turbidimetry, CRP by nephelometry, and TNF- α , IL-6 and IL-8, VWF and ADAMTS13 antigen by ELISA. The presence of RVO was investigated by duplex examination and PTS by Villalta scale. **Results:** Thirty patients (39%) had VTE caused by transient risk factors, mainly the use of oral contraceptives, and 47 patients had spontaneous VTE. Serum levels of TNF- α and IL-6 were significantly increased in patients when compared to controls (median= 2.25 vs 1.59pg/mL, $P \leq 0.001$; 1.16 vs 0.98pg/ml, $P=0.013$, respectively) whereas levels of IL-8 and CRP were similar among the groups (median= 18.3 vs 18.27pg/mL, $p=0.47$; 0.21 vs 0.17mg/dL, $P=0.29$, respectively). Thirty-two patients (42,8%) had D-dimer > 0.55 mg/L and were defined as having increased coagulation activity. Inflammatory markers, such as TNF- α , IL-6, IL-8 and CRP, were significantly higher in those patients, comparing to patients with D-dimer \leq 0.55 mg/L ($P=0.0057$, 0.001, 0.0093 and 0.0075, respectively). The presence of PTS or RVO were not associated with increased inflammatory or coagulation activity. Only ADAMTS13-CBA and plasma levels of IL-8 were higher in patients with PTS comparing to patients without PTS. All inflammatory markers and coagulation parameters studied were similar in patients regardless the presence of RVO. **Conclusion:** Our findings suggest that there is an inflammatory and pro-coagulant activity in patients even after the acute DVT episode. However, these activities were not related to the persistence of clinical and radiological sequels of DVT. Moreover, the increasing levels of VWF support the hypothesis that the inflammation is chronically activated. In this context, the increasing levels of ADAMTS13, also observed in patients, could be explained as a compensatory mechanism and maybe act as a protection against pro-thrombotic activity seen in these patients.

0330

Linfoma de Hodgkin versus Doença de Rosai Dorfman em paciente com lúpus eritematoso sistêmico: relato de caso

Feitosa CC, Silva JB, Teixeira MA

Pontifícia Universidade Católica de Campinas – PUC-Campinas, Campinas, SP

Introdução: O desenvolvimento de neoplasias em paciente com diagnóstico prévio de patologias hematológicas tem sido estudado há décadas. Muitos trabalhos também tem sugerido que portadores de doenças reumatológicas, entre elas o lúpus eritematoso sistêmico (LES), tem risco aumentado para evoluir com doenças linfoproliferativas clonais, principalmente as relacionadas aos linfócitos B, e doenças benignas, por exemplo, a Doença de Rosai Dorfman. Pesquisas em multicentros internacionais mapearam um perfil bimodal para o desenvolvimento de linfoma Hodgkin em pacientes previamente diagnosticados como lúpicos, no qual há duas faixas etárias, entre 15 e 35 anos e mais de 50 anos. Nesta amostra também foi evidente o predomínio no sexo masculino. No entanto, a presença de LES e o seu tratamento, em alguns casos, podem interferir na manifestação de sinais e sintomas de outras patologias, agindo como fator confundidor na elaboração das hipóteses diagnósticas. **Relato de Caso:** paciente sexo masculino de 30 anos, branco, motoboy, em acompanhamento por Síndrome de Evans secundária a LES por 4 anos em outro serviço. Inicialmente foi tratado com corticoterapia e cloroquina, porém não houve remissão dos quadros hemorrágico e de hemólise, sendo então proposto esplenectomia. O anátomo-

-patológico revelou histiocitose sinusal (CD34 positivo em endotélio vascular, CD38 + em numerosos macrófagos, CD31 positivo em vasos, S-100, em esparsos macrófagos, HMB45 negativo, Ki 67 positivo em esparsos centros germinativos). Permaneceu sem seguimento clínico por 2 anos e procurou o Hospital da PUC-Campinas referindo linfonodomegalia generalizada e dolorosa, acompanhada de febre intermitente e tosse seca. Tais sintomas apresentavam remissão parcial com uso de prednisona e codeína. Dentre as sorologias virais pesquisadas, encontramos IgM positiva para Epstein-Barr (EBV). Durante a internação foi realizado biópsia excisional de linfonodo cervical à esquerda, cujo anátomo-patológico e imunohistoquímica foram inconclusivas, sendo as principais hipóteses diagnósticas linfoma de Hodgkin e Doença de Rosai Dorfman. **Discussão:** O caso por nós relatado teve apresentação clínica inicial de LES. Ao evoluir com linfonodomegalia generalizada, foi realizada extensa investigação quanto a sua etiologia, procurando correlacionar o quadro clínico atual com sua história pregressa. O aumento dos linfonodos nos levou a cogitar a Doença de Rosai Dorfman e o linfoma de Hodgkin, sendo que, segundo a literatura, a associação desta última patologia com LES é muito mais frequente que a Doença de Rosai-Dorfman. Porém, de acordo com outros autores, a infecção por EBV em casos como este tem relação maior com a Doença de Rosai-Dorfman. **Conclusão:** Os laudos de biópsia e imunohistoquímica ainda são fundamentais para estabelecer o diagnóstico de doenças linfoproliferativas. Quando diante de casos em que há histórico de doenças auto-imunes tais exames são cruciais porque patologias benignas mimetizam linfomas, o que pode atrasar a confirmação de diagnóstico preciso.

0331

Pacientes em anticoagulação oral no ambulatório de clínica médica da PUC, Campinas

Moraes ND, Souza FF, Silva JB, Teixeira MA

Pontifícia Universidade Católica de Campinas – PUC-Campinas, Campinas, SP

Introdução: Os inibidores da vitamina K têm sido amplamente utilizados na prevenção de eventos tromboembólicos em portadores de fibrilação atrial, próteses valvares e para o tratamento de tromboes venosas profundas e tromboembolismo pulmonar. Devido à forte interação com alimentos e medicações, existe uma dificuldade em manter metas adequadas de INR (International Normalized Ratio) em alguns pacientes. Sabe-se que o uso indiscriminado de inibidores de vitamina K pode trazer risco de intoxicações e sangramentos, portanto, aqueles que fazem uso de tal medicação devem ser orientados quanto aos riscos de toxicidade e interações. Mesmo com o advento de novas drogas anticoagulantes que não necessitam de controle periódico de INR, os antagonistas da vitamina K ainda tem sido os mais utilizados devido a baixo custo da terapêutica. **Objetivo:** Verificar o perfil dos indivíduos em uso de inibidores da vitamina K no ambulatório de Clínica Médica da PUC-Campinas e quantos destes alcançavam a meta de INR. Métodos Foram analisados 103 pacientes em uso de varfarina no período de 01 de Janeiro a 01 de Julho de 2012. Os dados quanto a indicação de anticoagulação, meta de INR exigida e alcançada foram retirados da última consulta registrada nas fichas cadastrais que todos os pacientes possuem. Foram consideradas metas de INR entre 2,0 e 3,0 para pacientes portadores de fibrilação atrial, flutter atrial, tromboes venosas profundas, trombofilias e tromboembolismo pulmonar e metas entre 2,5 e 3,5 para portadores de próteses mecânicas mitrais e aórticas. **Resultados:** Dos pacientes analisados, 56 (54%) eram do sexo masculino e 47 (46%) do sexo feminino. Fibrilação atrial foi o motivo que mais levou a indicar anticoagulação, computando 52 (50,49%) pacientes. Dentre as outras indicações, observamos: 17 (16,5%) devido a prótese mecânica

mitral, 5 (4,85%) devido a prótese mecânica aórtica, 9 (8,74%) devido a tromboembolismo pulmonar, e 8 (7,77%) devido a trombose venosa profunda. A análise de meta de INR no momento da última consulta evidenciou que 63 pacientes (61%) estavam na meta previamente estabelecida. Dos que se encontravam fora da meta, 24 (63,2%) estavam com níveis de INR abaixo da meta e 14 (36,8%) estavam acima da meta. **Discussão e Conclusão:** Comparando os nossos dados com os de outros estudos da literatura, encontramos porcentagens semelhantes de pacientes que alcançaram a meta de INR (em torno de 60%). Homens com fibrilação atrial são o perfil mais comum de anticoagulação em nosso serviço. Este trabalho permitiu que identificássemos dificuldades dos pacientes com a medicação e que elaborássemos uma nova ficha ambulatorial do paciente em anticoagulação e uma cartilha de orientações sobre o uso da varfarina.

0332

Efeito antiproliferativo de um análogo de heparina obtido do camarão cinza e seu papel na modulação das complicações hemostáticas no câncer

Cavalcante RD, Palhares LC, Brito AS, Souza LR, Azevedo FM, Oliveira FW, Cruz AK, Chavante SF

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

A heparina, conhecida pelo seu potencial anticoagulante, é bastante utilizada no tratamento de doenças tromboembólicas. Sua heterogeneidade química a permite interagir em outros eventos biológicos importantes como a tumorigênese, interferindo desde a progressão tumoral até as complicações trombóticas observadas em pacientes com câncer. Entretanto, a aplicabilidade clínica desse efeito é comprometida em decorrência de seu elevado potencial hemorrágico. Por esta razão, compostos análogos de heparina (conhecidos por heparinoide), identificados em invertebrados marinhos, tem sido alvo de estudos, por apresentar efeitos colaterais reduzidos. Dessa forma o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antiproliferativo e antitrombótico do heparinoide. Para tanto o heparinoide foi isolado do *Litopenaeus vannamei* mediante proteólise e tratamento com acetona e purificado por cromatografias de troca-iônica e gel filtração. A capacidade do heparinoide de interferir no crescimento tumoral foi avaliada através de ensaios de viabilidade celular *in vitro* utilizando células de carcinoma de colo uterino (HeLa). Enquanto que seu efeito antitrombótico foi analisado *in vivo* pelo modelo de ligadura de veia cava em ratos, e *in vitro* pela sua capacidade de estimular a síntese de heparan sulfato antitrombótico por células endoteliais. Em adição, sua interferência em eventos da hemostasia foram constatados pelo TTPa (Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada) e potencial hemorrágico em modelo de escarificação de cauda de rato. A avaliação do heparinoide sobre os eventos da hemostasia revelaram que este composto apresenta um baixo potencial anticoagulante e um reduzido efeito hemorrágico, quando comparados a heparina de mamíferos. Na modulação do crescimento tumoral, o heparinoide reduziu a proliferação em torno de 50%. Mostrou-se ainda efetivo na redução do volume do trombo, além de não exibir efeito sobre a síntese de heparan sulfato antitrombótico pelas células endoteliais, como é característico da heparina. Tais Resultados apontam o heparinoide como um promissor agente coadjuvante no tratamento oncológico, uma vez que reduziu não apenas o desenvolvimento tumoral como também as complicações decorrentes dos eventos trombóticos, prolongando assim o tempo de sobrevida destes pacientes.

0333

A associação da mutação JAK2 V617F e eventos tromboembólicos em pacientes com trombocitemia essencial e mielofibrose idiopática de um centro Brasileiro: dados de um estudo retrospectivo

Zeinad-Valim AK, Villaca PR, Okazaki E, Linardi CC, Sukanuma LM, Seguro F, Chamone DA, Amico EA

Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, SP

Introdução: Os eventos tromboembólicos (TEV) são a principal causa de morbimortalidade em pacientes com doenças mieloproliferativas crônicas *bcr-abl* negativas. Estudos recentes indicam uma possível associação da mutação *JAK2 V617F* com o risco de fenômenos vasculares neste grupo de pacientes, principalmente nos indivíduos com diagnóstico de trombocitemia essencial (TE), e de maneira menos consistente naqueles com mielofibrose idiopática (MF). Neste estudo retrospectivo realizado a partir dos casos em seguimento no ambulatório de doenças mieloproliferativas de um grande hospital terciário do Estado de São Paulo, avaliamos os pacientes com TE e MF, a prevalência de TEV nesta população e sua associação com a mutação *JAK2 V617F*. **Resultados:** Estão em acompanhamento em nosso serviço 105 pacientes com TE, sendo 71% do sexo feminino. Deste total, 53 (50,4%) apresentam a mutação heterozigota *JAK2 V617F*, sendo que 28 (52,83%) destes apresentam associação com TEV (18 em território arterial –TA e 10 venoso -TV). Nos 52 indivíduos com TE sem mutação (50,9%), 25% (13) cursaram com TEV prévio (6 em TA e 7 em TV). A presença da mutação *JAK2* foi fator de risco para trombose nos pacientes com TE ($p=0,0049$). No grupo de pacientes com MF (20 mulheres e 19 homens), 19 (48,71%) apresentaram positividade para a mutação. Deste grupo apenas 8 pacientes apresentaram associação com TEV (7 em TA e 1 em TV). Nos indivíduos com MF sem mutação, 4 (20%) evoluíram com TEV (3 em TA e 1 em TV). A presença da mutação nos pacientes com MF não se mostrou fator importante para o desenvolvimento de TEV ($p=0,1760$). **Conclusão:** As doenças mieloproliferativas crônicas são caracterizadas em grande parte dos casos por longa sobrevida, e o seu tratamento, que inclui o uso prolongado de agentes citorredutores, pode estar associado à evolução para leucose aguda e teratogenicidade. Estas potenciais variáveis nos levam a considerar criteriosamente a avaliação correta do risco de TEV, e a individualização do tratamento torna-se imprescindível nesta população tão heterogênea. A presença da mutação nos pacientes com TE parece estar associada com maior incidência de eventos tromboembólicos, semelhante a dados publicados na literatura. Entretanto estudos prospectivos multicêntricos são necessários para validação destes Resultados e otimização da estratégia terapêutica.

LEUCEMIA LINFÓIDE CRÔNICA E OUTRAS DOENÇAS LINFOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS

0334

Molecular cytogenetic characterization on immunostimulated g-banding analysis in 186 chronic lymphocytic leukemia patients: correlation with ZAP-70

Oliveira FM, Silva FP, Alves AP, Falcão RP

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

We performed metaphase induction in a cohort of 186 chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients immunostimulated by the com-

bination DSP30/IL-2 to detect the most important chromosomal abnormalities, by *G-banding* and spectral karyotype analysis and compare the results obtained with a panel FISH probe for CLL and arrayCGH. Additionally, we correlated all *G-banding* data with ZAP-70 protein expression, by flow cytometry. All patients' samples were collected between May 2007 and February 2012. The diagnosis of CLL was based on morphology and a score of four or five points according the Matutes immunophenotypic system. Chromosome preparations were obtained by standard procedures and the subsequent cytogenetic analysis and interpretation were made according to ISCN 2009. Slides for SKY were prepared by using the same fixed chromosome preparations, stored at -20°C, as employed for *G-banding* analysis. Chromosome labeling was performed with the SKY fluorescent labeling kit, according to the manufacturer's protocol. FISH analysis on unstimulated cells was performed with commercial probes for the detection of +12, and deletions/rearrangements of 6q22 (*MYB*), 11q22.3 (*ATM*), 13q14 (*D13S25* and *D13S319*), 14q32 (*IGH*), and 17p13 (*TP53*). ArrayCGH using Agilent's Human Genome CGH Microarray Kit 244A (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) were used in patients with normal karyotype (n=16). ZAP-70 analysis was carrying out on peripheral blood cells with the following antibodies: CD3, CD19, CD5 and anti ZAP-70 Alexa Fluor 488 antibody. The results showed that 117/186 (63%) patients were classified as Binet A, 45/186 (24%) were Binet B and 24/186 (13%) were classified as Binet C. Clonal chromosomal abnormalities were detected in 138/186 (74.2%) of the patients. Normal karyotype was identified in 50 of 186 patients (25.8%). In the group with normal karyotype, 16/50 (32%) showed chromosomal abnormalities only detected by FISH and arrayCGH. This last one revealed gains of 2p, 12p, 14q, 17q, 19q and 20q and losses of 2p, 6q, 8p, 13q, 15q and 18p. Complex karyotype (≥ 3 abnormalities) was identified in 33 of 186 patients (17.7%). In 12 of 33 (36.3%) FISH analysis identified deletion of *TP53* gene. However, only 9 of 12 patients was possible the identification of the del(17p). SKY analysis helped to classify the chromosomal abnormalities observed with increased precision in all patients with complex Karyotype. 142 patients (76.4%) displayed a positive ZAP-70, while in 46 we observed results above 20% (*cut off*). In patients with normal karyotype (n=50) we found a heterogeneous distribution of ZAP-70. Twenty one patients with normal cytogenetic presented ZAP-70 higher than 20% (*cut off*). On the other hand, All patients with sole del(13q) showed ZAP-70 negative (p=0.001). However, when the patients were stratified according to the main abnormalities in CLL we noted that even patients with del(13q), with one additional alteration or two, exhibited ZAP-70 positive (p=0.001). In general, we noted that patients with additional chromosomal abnormalities rather than the classical ones for CLL, exhibited ZAP-70 at higher levels when compared with the groups with sole abnormality.

0335

Identificação dos principais diagnósticos e intervenções de enfermagem em portadores de leucemia linfocítica crônica de um hospital universitário de Recife, PE

Silva GP, Costa JA, Travasso SQ, Carvalho QG

Departamento de Enfermagem, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

Introdução: A Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) é uma neoplasia do sistema linfo-hematopoético caracterizada pela proliferação e acúmulo de linfócitos de aspecto relativamente maduro no sangue, medula óssea, linfonodos, baço, fígado e outros órgãos. É a mais frequente nos países ocidentais (22% a 30%) e acomete normalmente pessoas do sexo masculino numa proporção de 2:1. No estágio inicial, observa-se linfocitose, linfadenopatia, hepatomegalia e esplenomegalia. Nos estágios mais avançados a ane-

mia, trombocitopenia e aumento da suscetibilidade a infecções são comuns. Por incidir comumente em idosos e progredir lentamente, a LLC é geralmente tratada de maneira conservadora, sendo a LLC de células B (LLC-B), a mais comum. A enfermagem se faz fundamental durante o tratamento da LLC devido às diversas complicações e riscos que diminuem a qualidade de vida do cliente. A sistematização da assistência de enfermagem (SAE) possibilita um levantamento de dados criterioso, o que norteia a assistência, torna-a contínua e favorece a realização de práticas humanizadas de cuidado. **Objetivos:** Identificar os principais diagnósticos e intervenções de enfermagem direcionadas ao paciente portador de LLC-B. **Métodos:** Estudo descritivo realizado durante a prática curricular na clínica médica de um Hospital Universitário de Recife-Pe, no período de abril a junho/2012. Foram utilizadas as taxonomias de NANDA-I e NIC para a elaboração dos principais diagnósticos e intervenções (I) de enfermagem. **Resultados:** Os principais diagnósticos e intervenções foram: Fadiga relacionada à anemia secundária à LLC evidenciada por verbalização de falta de energia e cansaço. I: Monitorar os exames laboratoriais, pontuar a fadiga (escala de 1 a 10) e seus efeitos em sua capacidade de participar das atividades desejadas, orientar a realização de atividades conforme a tolerância. Risco de temperatura corporal elevada relacionado à infecção. I: Monitorar a temperatura corporal (6/6h) diminuindo os intervalos em caso de alterações, medir sinais vitais, no mínimo, de 12/12h e atentar para os sinais de hipertermia, vale ressaltar que durante a aplasia o aumento da temperatura não ocorre de maneira exacerbada (atenção aos quadros de febre de baixa intensidade). Risco de infecção relacionado à anemia, leucopenia e imunossupressão. I: orientar sobre a importância da realização da higiene pessoal, além de atentar para sinais de infecção. Risco de integridade da pele prejudicada relacionado a fatores imunológicos. I: atentar para o turgor, elasticidade, hiperemia, edema e solução de continuidade da pele, orientar hidratação e nutrição adequada e minimizar exposição ao sol. Risco de lesão relacionado ao perfil hematológico anormal (pancitopenia) e irritantes químicos (quimioterapia). I: atentar para os sinais de lesão nas mucosas (Ex: mucosite), reforçar a importância da higiene oral e utilização de soluções analgésicas e alcalinas, conforme prescrição. **Conclusão:** A atuação do enfermeiro no cuidado ao portador de LLC é essencial para a qualidade da assistência prestada. Somente a partir da SAE é possível identificar as principais características definidoras do problema do cliente e elaborar um plano de ação eficaz e individualizado que busque a manutenção da saúde e da qualidade de vida no atendimento de suas necessidades básicas.

0336

Associação entre doenças linfoproliferativas crônicas indolentes e segunda neoplasia: análise de uma série de casos

Yamakawa PE, Carvalho PD, Lage LA, Pereira J

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: A associação entre neoplasias secundárias e doenças linfoproliferativas crônicas, predominantemente leucemia linfocítica crônica (LLC), é conhecida e tem sido descrita recentemente na literatura. Existem muitos pontos não esclarecidos a respeito de sua gênese: se o uso de terapia quimioterápica para estas doenças pode aumentar o risco de tumores secundários, se estes pacientes apresentam instabilidade genômica predisponente ao desenvolvimento de múltiplas neoplasias ou se na verdade o encontro de tumores secundários são eventos incidentais relacionados à idade avançada dos pacientes portadores de LLC e outras linfoproliferações indolentes.

Objetivo: Relatar os casos de neoplasia secundária em pacientes com diagnóstico de linfoproliferação crônica indolente acompanhada

dos no Serviço de Hematologia do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP) e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) e verificar se os dados desta série de caso de pacientes brasileiros está de acordo com o que é descrito na literatura médica mundial. **Métodos:** De 2009 a 2012, foram levantados por consulta em prontuário médico os dados de 82 pacientes com diagnóstico de linfoproliferação crônica indolente acompanhados no serviço, verificando-se presença de segunda neoplasia em 9 destes. **Resultados:** Dos 82 pacientes com diagnóstico de linfoproliferação crônica indolente, foram observados nove pacientes com segunda neoplasia documentada histopatologicamente. A idade média destes pacientes foi de 67 anos (variando de 47 a 77 anos), sendo 2 mulheres e 7 homens. Boa parte destes pacientes tinha como diagnóstico inicial Leucemia Linfocítica Crônica (6/9) e haviam recebido quimioterapia prévia (7/9), com esquemas que incluíam CHOP, FC (fludarabina e ciclofosfamida) e clorambucil. O tempo médio desde o diagnóstico inicial até a segunda neoplasia foi de 53 meses, sendo observados dois pacientes com carcinoma basocelular de pele, dois pacientes com carcinoma renal de células claras, um paciente com carcinoma espinocelular de língua, um paciente com adenocarcinoma de pulmão, um paciente com carcinoma ductal invasivo de mama, um paciente com adenocarcinoma de próstata e um paciente com linfoma não Hodgkin de células do manto. **Discussão:** A presença de segunda neoplasia tem sido descrita como complicação em pacientes com Leucemia Linfocítica Crônica. Dentre os tumores sólidos descritos na literatura são relatados neoplasias de rim, pulmão, próstata e pele. O mecanismo que contribui para este efeito não tem sido claramente elucidado, sendo sugerido como fatores colaboradores a imunodeficiência secundária a linfoproliferação crônica, infecção viral concomitante e uso de quimioterápicos. Observamos segunda neoplasia em 10,9% dos pacientes levantados, dado este condizente com a literatura mundial, que descreve incidência de segunda neoplasia em 4 a 40% dos pacientes. Estes dados devem chamar atenção dos médicos hematologistas para pacientes com apresentações atípicas de linfoproliferações crônicas, tais como sintomas obstrutivos, serosites ou lesões cutâneas, que podem ser manifestações decorrentes de neoplasia secundária.

0337

Avaliação da expressão do CD200 na leucemia linfocítica crônica e outras doenças linfoproliferativas crônicas B

Dutra FR¹, Ferraz TB¹, Brito AE¹, Neves MA¹, Santos AL², Machado CG^{1,2}

¹ Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Recife, PE

² Universidade de Pernambuco - UPE, Recife, PE

Introdução: Os linfomas não Hodgkin B (LNH-B) são um grupo de doenças neoplásicas constituídas por células linfóides B que variam de linfoblastos a plasmócitos, sendo conhecidas como Doenças Linfoproliferativas. A mais comum destas doenças em adultos é a Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) caracterizada pela proliferação de linfócitos de aspecto maduro em medula óssea e sangue periférico. A maioria dos outros LNH-B acomete tecidos linfóides, no entanto durante a evolução da doença pode ocorrer leucemização, definida como invasão do sangue periférico e/ou medula óssea pela neoplasia, levando a um quadro semelhante ao da LLC e dificultando o diagnóstico diferencial entre as diferentes entidades. A avaliação da glicoproteína CD200, presente em células B, através da imunofenotipagem por citometria de fluxo, tem se mostrado útil na diferenciação entre LLC e outras doenças linfoproliferativas crônicas (DLPC), pois a expressão desta proteína costuma ser elevada em linfócitos da LLC quando comparada às células normais e a algumas DLPCs. **Objetivo:** Avaliar a expressão do CD200 em linfócitos de LLC e outras DLPCs B, em valo-

res percentuais e por intensidade média de fluorescência (IMF). **Métodos:** Foram analisadas 50 amostras de sangue periférico de pacientes adultos de ambos sexos com diagnóstico de DLPC B. As características do hemograma, da imunofenotipagem e os achados clínicos auxiliaram na diferenciação entre LLC e demais DLPCs. A avaliação de expressão do CD200 foi feita em citômetro de fluxo FACS Calibur (BECTON-DICKINSON, San Jose) em células de interesse. **Resultados:** Dentre as 50 amostras, 29(58%) eram LLC e 21(42%) outras DLPCs B. Não houve significância estatística entre os dois grupos em relação ao gênero e a idade. Houve significância estatística quando comparados os valores de leucócitos e linfócitos, sendo mais elevados no grupo LLC. Quanto à expressão do CD200, a média de expressão percentual foi 72% na LLC e 44% nas demais DLPCs, mas sem significância estatística segundo o t-Student (p=0,104). A avaliação do CD200 através da IMF, na LLC, variou de 2,72 a 35,89, com média de 7,79 e no grupo DLPC a variação foi de 2,62 a 8,86 com média de 3,98 e o teste de Mann-Whitney confirmou a significância estatística (p=0,001). **Conclusão:** Demonstrou-se neste estudo que a expressão do CD200 é variável entre as DLPCs, sendo mais elevada na LLC e assim sua avaliação, notadamente com a aplicação da IMF, pode ser útil no diagnóstico diferencial destas doenças, principalmente em centros onde as principais ferramentas diagnósticas são as análises citomorfológicas e a citometria de fluxo. **Palavras-chave:** Leucemia Linfocítica Crônica; DLPCs B; CD200

0338

Leucemia de grandes linfócitos granulares agressiva

Fernandes JP, Borges FF, Junior JGR, Stel VM, Rodrigues CA, Yamamoto M

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Introdução: A leucemia de grandes linfócitos granulares T (T-LGL) representa 2-3% das leucemias linfocíticas maduras e acomete indivíduos de ambos os gêneros, entre a 5ª e 8ª décadas de vida. Tem curso clínico indolente e os pacientes apresentam sobrevida mediana de 13 anos e frequente associação com doenças autoimunes e citopenias. O diagnóstico é baseado na imunofenotipagem dos linfócitos de sangue periférico sendo mais comumente CD3+, CD8+, CD56-, CD57+ e rearranjo TCR. A forma agressiva da T-LGL é muito rara, com sintomas sistêmicos e curta sobrevida. Estes casos são geralmente CD56+ e CD57-. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 59 anos, apresentava febre esporádica há 10 meses e emagrecimento. Ao exame físico observava-se linfonodo cervical (3cm), sem visceromegalias. Ex. laboratoriais: Hb 10,4g/dL, GB 13,8x10⁹/L (Nt=6%; Li=93%) e plaquetas= 98x10⁹/L. Presença de grânulos grossos na maioria dos linfócitos. IF dos linfócitos: CD3+, CD8+, CD56+, CD57-, TCR alfa-beta+, CD2+, CD7+. Após 2 meses do diagnóstico, evoluiu com infecção pulmonar e choque séptico. Apresentava hepatomegalia e nódulos pulmonares na tomografia de tórax. Foi tratado com antibióticos e antifúngico, mas evoluiu com rápida progressão da linfocitose em 5 dias (GB 151x10⁹/L, 88% linfócitos) e neutropenia grave (0,29 x10⁹/L), sendo introduzida a prednisona 1mg/kg/dia. Houve melhora clínica e queda da linfocitose em 4 dias (Linfócitos=2.5x10⁹/L), tendo alta hospitalar em desmame de prednisona. Perdeu seguimento ambulatorial. Após 3 meses, reinternou com nova infecção pulmonar, hemorragia digestiva alta e instabilidade hemodinâmica. Hb 4,05g/dl, GB 195x10⁹/L (Nt=15x10⁹/L, Li=179x10⁹/L) e 71x10⁹/L plaquetas. À endoscopia apresentava lesões duodenais com sangramento ativo e a biópsia não foi possível. Reintroduzido prednisona com rápida diminuição da leucocitose (GB=13x10⁹/L) e foi associado metotrexato ao esquema terapêutico. Infelizmente, apesar dessas medidas, o paciente evoluiu com piora clínica progressiva e óbito. **Discussão:** Descrevemos um caso de T-LGL agressiva

va de difícil controle com sintomas pulmonares e acometimento do trato gastrointestinal. Na literatura encontramos 17 casos relatados em 7 publicações. A idade mediana foi 41,5 anos (var 9-71anos), com predomínio masculino e frequente envolvimento de órgãos extratorácicos (6 com infiltrado pulmonar, 2 com acometimento gastrointestinal). A mediana de leucócitos totais na primeira avaliação foi de $9,7 \times 10^9/L$ (var $2-29 \times 10^9/L$), e na evolução de $64,3 \times 10^9/L$ (var $53-99 \times 10^9/L$). A maioria não apresentava anemia ou plaquetopenia. O tratamento foi variável, com resposta insatisfatória na maioria e evolução para óbito em 2,5 meses (var 20dias - 7meses). Estavam vivos na ocasião da publicação 8 pacientes que tinham recebido poliquimioterapia e/ou transplante de células progenitoras hematopoéticas (TCPH). O nosso paciente apresentou rápida resposta, apesar de transitória, à corticoterapia isolada. Destacamos a importância de reconhecer as manifestações clínicas graves e alterações laboratoriais dessa entidade com má resposta à quimioterapia convencional. Embora existam relatos de melhor resposta a regimes intensivos semelhantes aos realizados para LLA, esses dados ainda precisam ser confirmados. O uso de alemtuzumabe e o TCPH podem ser considerados.

0339

Avaliação do perfil clínico-laboratorial e evolução de pacientes com leucemia linfocítica crônica da Fundação HEMOPE

Ferraz TB¹, Dutra FR¹, Neves MA¹, Brito AE¹, Santos AL², Machado CG^{1,2}

¹ Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Recife, PE

² Universidade de Pernambuco - UPE, Recife, PE

Introdução: A leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma neoplasia caracterizada pelo acúmulo de linfócitos pequenos de aspecto maduro no sangue periférico, na medula óssea e em tecidos linfóides. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a LLC faz parte dos linfomas não-Hodgkin B. Há algumas décadas, era considerada uma doença homogênea da célula B madura, acumulativa, decorrente de falhas nos mecanismos apoptóticos. No entanto, o maior conhecimento dos mecanismos biológicos da doença adquiridos nos últimos anos, comprovam que se trata de uma doença heterogênea com curso clínico variado. **Objetivo:** Avaliar o perfil clínico-laboratorial e evolução de pacientes com LLC diagnosticados e acompanhados na Fundação Hemope de janeiro de 2005 a junho de 2012 **Métodos:** Foram avaliados os prontuários de 170 pacientes adultos de ambos os sexos. Para levantamento das variáveis de interesse, utilizou-se o formulário de coletas de dados padronizado pelo Registro Brasileiro de LLC, do qual o Hemope é participante. **Resultados:** Ao diagnóstico, a mediana de idade foi de 68anos(38-91);95 homens e 75 mulheres (H;M 1,2/1). Quanto ao estadiamento clínico, 103 (60,6%) foram classificados como Binet A, 37(21,8%) e 30(17,6%) C. O valor médio de hemoglobina foi 11,9g/dL (4,0-16,0); média de leucócitos $74,1 \times 10^9/mm^3$ (8,0-500); média de linfócitos 81,9% (43-98) e $60,810^9/mm^3$ (5,0-490); linfócitos no mielograma 73,4% (15-98); plaquetas $189,910^9/mm^3$ (26-465). A imunofenotipagem foi compatível com o diagnóstico de LLC, positividade para CD20 (95%), CD5 (100%), CD23 (100%) ausência do CD79b (82,5%) e FMC7 (93,6%) e baixa expressão de IgMs com predomínio de cadeia leve kappa (63%). As expressões do CD38 e ZAP-70 em células LLC, foram avaliadas, para o CD38, 140(82%) amostras com positividade (*cut-off* $\geq 30\%$) em 86(62%) e para a ZAP-70 (*cut-off* $\geq 20\%$), 70 amostras(41%), com positividade em 40 (57%). O teste de Coombs foi avaliado em 40 amostras com positividade de 12,5%. Os estudos citogenéticos e rearranjo de genes da cadeia pesada da *IGH* não foram realizados. O clorambucil foi a droga mais empregada (33%) e 57% dos

pacientes não foram tratados. Dos 170 pacientes avaliados, 52% estão vivos, 11% foram a óbito e em 47% ocorreu perda de seguimento, caracterizada por não comparecimento às consultas em período igual ou superior a 12 meses. A principal causa de óbito foi a infecção respiratória e consequente choque séptico. **Conclusão:** A mediana de idade e o discreto predomínio do sexo masculino foram compatíveis com outros levantamentos nacionais, bem como o predomínio de estádios A e B. O número expressivo de pacientes em estágio C, provavelmente reflete o diagnóstico tardio da LLC em nossa região. Quanto às características laboratoriais, esta amostragem não difere do esperado, destacando-se às dificuldades regionais para a realização de testes citogenéticos e moleculares. O fato de mais da metade dos pacientes não ter recebido tratamento específico também é concordante com a literatura e com o predomínio de estágio A. Por outro lado, a perda de seguimento em 47% dos casos prejudicou a avaliação da condição real destes pacientes. Finalmente, o estudo foi essencial para o conhecimento do perfil dos portadores de LLC auxiliando na criação do banco de dados nacional, como participante do Registro Brasileiro de LLC.

0340

Características laboratoriais, perfil do tratamento e curso evolutivo em pacientes diagnosticados com síndrome mielodisplásica na Fundação HEMOPE

Barreto R¹, Machado CG^{1,2}

¹ Universidade de Pernambuco - UPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Recife, PE

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMDs) são reconhecidas como doenças que se originam nas células-tronco da medula óssea e que requerem avaliação sistemática e criteriosa de sangue periférico e medula óssea para seu correto diagnóstico. No Brasil, ainda são escassos os estudos sobre as SMDs na população geral, tornando-se relevantes estudos que possibilitem identificar precocemente a doença, o que provavelmente irá refletir no curso prognóstico. **Objetivo:** Caracterizar os aspectos laboratoriais e terapêuticos, além da evolução clínica em pacientes diagnosticados com SMD durante a última década na Fundação Hemope, conforme os critérios de classificação dos grupos FAB e OMS. **Métodos:** O estudo foi realizado nas unidades de Hematologia e de Laboratórios Especializados da Fundação Hemope. Foram incluídos 149 pacientes diagnosticados entre janeiro de 2000 e janeiro de 2011, sendo os dados de interesse obtidos em consulta aos prontuários dos pacientes. A Leucemia Mielomonocítica Crônica (LMMC) foi estudada a parte, totalizando 21 pacientes, por se tratar de uma doença atualmente classificada como Neoplasia Mieloproliferativa/Síndrome Mielodisplásica, uma vez que agrega achados destas duas entidades. **Resultados:** Evidenciou-se que a distribuição por faixa etária confirma o predomínio desta doença entre os idosos, observando-se a média ao diagnóstico de 65,1 anos, enquanto que pacientes com diagnóstico de LMMC a idade média correspondeu a 67,7 anos. Quanto ao gênero, a relação foi de 1: 1 estando de acordo com a literatura. Considerando a distribuição por subtipos, segundo FAB, houve predomínio de anemia refratária (AR) e quando empregada a classificação da OMS, o predomínio foi da citopenia refratária com displasia unilinhagem (CRDM). Achados também descritos em outros estudos. Os achados laboratoriais referentes ao hemograma no grupo SMD confirmaram a anemia com VCM elevado como o achado mais frequente associado à baixa contagem de mieloblastos (em torno de 1%). Enquanto que no grupo LMMC, destacou-se também a anemia com macrocitose e leucocitose com percentual de blastos superior a 1%. Quanto ao mielograma, foi predominantemente hiperplasmático em ambos os

grupos, apresentando algum grau de displasia. Na biópsia óssea a identificação de fibrose reticulínica foi encontrada em 40% dos casos, informação relevante para a subclassificação e avaliação prognóstica nesses pacientes. Quanto à citogenética, essencial para diagnóstico e prognóstico, foi realizada em apenas metade dos casos. Os esquemas terapêuticos foram utilizados em praticamente todos os pacientes de acordo com o subtipo. A terapia de suporte (transfusão sanguínea, vitamina B12 e o ácido fólico) foi instituída na maioria dos casos associada à eritropoietina (EPO), enquanto que o uso de medicamentos específicos (talidomida e decitabina) e a quimioterapia adjuvante ficaram reservados para os subtipos de maior risco de progressão para leucemia. Em relação ao curso evolutivo, 34% permanecem vivos em curso de tratamento, 30,6% evoluíram para o óbito e em 35,4% houve perda de seguimento. **Conclusão:** Os Resultados contribuíram para uma melhor compreensão do curso clínico para uma atualização da proposta diagnóstica/prognóstica para as SMDs, tornando-a mais efetiva e direcionada de acordo com cada subtipo.

0341

Estudo com diferentes mitógenos para detecção de anormalidades citogenéticas em neoplasias de células B maduras

Oliveira R¹, Borri D¹, Castro AB¹, Fabris C^{1,2}, Fernandes P¹, Kishimoto R¹, Oliveira D¹, Ratis C¹, Santos M^{1,2}, Velloso E^{1,3}

¹ Laboratório de Técnicas, Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Hospital Albert Einstein, São Paulo, SP

² Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo – USP, SP

³ Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FM-USP, SP

Introdução: As neoplasias de células B maduras constituem o segundo grupo de neoplasias hematológicas mais frequentes no ocidente, sendo o diagnóstico diferencial entre elas muitas vezes difícil, necessitando da integração de aspectos clínicos, morfológicos, imunofenotípicos e citogenéticos. A neoplasia mais prevalente é a leucemia linfóide crônica (LLC), sendo as anormalidades citogenéticas clonais observadas em apenas 30% dos casos quando estudadas por técnicas de citogenética convencional (cariótipo) e em até 80% dos casos por técnica de FISH (hibridação *in situ* fluorescente), utilizando sondas padrões para estudo da deleção 13q, trissomia 12, deleção 11q (ATM), deleção 6q e deleção 17p (TP53). Apesar da melhor sensibilidade do teste de FISH, este é mais caro e não detecta outras anormalidades que não as pesquisadas. Nesse sentido há necessidade de se melhorar a detecção de clones ao cariótipo através da estimulação das células B neoplásicas que sabidamente tem um ciclo celular lento e dificuldade de entrar em mitose. As culturas celulares habitualmente utilizadas em laboratório de citogenética para estimulação das células B utilizam o mitógeno TPA (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato ou phorbol). Além disso, são realizadas culturas sem agente estimulante. Novos agentes estimulantes para linfócitos B têm sido utilizados recentemente, como a associação de um oligonucleotídeo (DSP30) com interleucina-2 (IL-2), o qual elevou a detecção de anormalidades clonais em LLC em até 80%. O DSP30 induz a célula a sair da fase G0/G1 do ciclo celular e ativa um receptor da IL-2 que irá agir como um segundo estímulo para célula. **Objetivo e Métodos:** Nosso objetivo foi comparar a detecção de anormalidades clonais em neoplasias de células B utilizando culturas sem agente estimulante, com TPA, com DSP30+IL2 200U/ml e DSP30+IL2 400U/ml em 16 amostras de pacientes com suspeita ou sabidamente portadores de neoplasias maduras de células B. Utilizamos um protocolo padrão, conforme descrito por Oliveira e cols (Oliveira FM, 2009). Após análise de pelo menos 10 metáfases de cada cultura, em sistema de cariotipagem IKaros Karyotyping System-MetaSystems® por dois analistas, o cariótipo

foi descrito de acordo com ISCN 2009. Resultados e **Conclusão:** A incidência de anormalidades clonais em neoplasias de células B madura nesse estudo foi de 50%, sendo a trissomia do cromossomo 12 a anormalidade mais frequente. A cultura com DSP30+IL2 (400U/ml) se mostrou superior a da DSP30+ IL2 (200U/ml). Não houve detecção de novas anormalidades clonais na cultura com DSP30+IL2 quando comparada com TPA. A cultura com oligonucleotídeo elevou o custo do cariótipo em 3%, mostrou uma resolução no bandamento inferior ao do TPA, entretanto foi capaz de detectar maior percentual de células com clones aberrantes. Acreditamos que ainda podemos melhorar a detecção de anormalidades citogenéticas clonais e talvez a associação dos três mitógenos possa ser uma abordagem eficaz.

0342

Identification of free light chain abnormalities at presentation allows stratification of stage A untreated Chronic lymphocytic leukaemia patients

Pratt G¹, Young P², Pepper C³, Holder R⁴, Fegan C³, Oscier D⁵, Mead G², Harding S²

¹ CRUK Institute for Cancer Studies, University of Birmingham, UK

² The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK

³ University of Birmingham, UK

⁴ Department of Haematology, Cardiff University, UK

⁵ Department of Haematology, Royal Bournemouth Hospital, UK

Background: Chronic lymphocytic leukaemia (CLL) is a heterogeneous disease and defining those with early stage disease who are likely to progress remains difficult. Current prognostic markers for CLL are limited by technical factors: immunoglobulin heavy chain variable gene (IGHV) mutational analysis involves DNA sequencing; ZAP-70 and CD38 expression profiles are measured by flow cytometry and prone to significant inter-laboratory variation. Serum free light chains are the most prevalent paraproteins in CLL, and an abnormal serum free light chain (FLC) ratio and elevated combined FLC (k + l FLC; cFLC) are independently prognostic in CLL patients. Here, we analyse a population of stage A untreated CLL patients to determine if *screening* for FLC abnormalities offers a sensitive prognostic alternative to the more technically challenging assays. **Aims:** To determine if FLC analysis offers a simple, sensitive alternative to CD38, Zap70 and IGHV mutational *status* for the stratification of stage A untreated CLL patients. **Methods:** This was a retrospective study of 168 stage A CLL patients: median age 75 years (range: 24-98); 61% male; median monitoring time 97 months (range: 2-362 months). FLC values were measured nephelometrically. Historic values for Zap70, CD38 and IGHV mutational *status* were used for statistical analysis (SPSS v19). **Results:** 29/168 (17%) patients had abnormal FLC ratios with no increased production (ratio-alone FLC); 15/168 (9%) had increased FLC production with normal FLC ratios (polyclonal-FLC); 21/168 (13%) had both abnormal FLC production and abnormal FLC ratio (monoclonal-FLC). The remaining 103/168 (61%) had no FLC abnormalities. All FLC abnormalities were associated with shorter overall survival compared with patients with no FLC abnormalities (monoclonal-FLC: HR=5.1, p=0.002 (75% survival: 97 months; 35% mortality rate (7/20 deaths)); polyclonal-FLC: HR=4.0, p=0.04 (75% survival: 101 months; 20% mortality rate (3/15 deaths)); ratio-alone FLC: HR=2.5, p=0.006 (75% survival: 128 months; 31% mortality rate (9/29 deaths)); no FLC abnormalities (75% survival: 225 months; 9% mortality rate (9/99 deaths)). Patients with any of the three FLC abnormalities (FLC-abnormal) had a significantly shorter overall survival (OS; median survival 212 v 282 months; p<0.0001) and a higher mortality risk (hazard ratio 4.0, p=0.001), compared with patients with no FLC abnormalities (FLC-normal). Cox-regression analysis demonstrated FLC-abnormal Zap70 expression and IGHV mutational *status* were

independently associated with shorter OS. 28/168 (17%) patients died during monitoring. FLC-abnormal was the most sensitive assay for detection of patients with shorter OS: 19/28 (68%) patients who died were FLC-abnormal; 11/26 (42%) were identified by CD38 analysis (2 missing results); 10/24 (42%) were identified by Zap70 analysis (4 missing results); and 6/25 (24%) were identified by IGHV mutational status (4 missing results). **Conclusion:** FLC analysis is a simple, quantitative serum test that is more sensitive than the more complex and technically challenging assays (Zap70, CD38 and IGHV mutational status) at detecting A untreated CLL patients with aggressive disease.

0343

Leucemia linfóide crônica T E Síndrome De Munchausen: relato de caso

Cardoso PN¹, Silva IV¹, Vieira FC¹, Amaro NS¹, Spera M¹, Kamaguchi G¹, Souto EX², Santos JS³, Borduchi DM³

¹ Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP

² Laboratório DASA

³ Central Clinic/D'Or

Introdução: Descrita pela primeira vez pelo médico inglês Richard Asher em 1951, a síndrome de Munchausen (SM) é um transtorno factício em que o paciente se mostra aguda e dramaticamente doente, com a habilidade de mimetizar sinais e sintomas de forma a necessitar de internações prolongadas, procedimentos de diagnósticos invasivos, longo tempo de terapia com as mais variadas classes de drogas e cirurgias. **Objetivo:** Relato de caso de diagnóstico de SM durante acompanhamento hematológico com simulação de Leucemia Linfóide Crônica T (LLC-T). **Relato de Caso:** GMA, 34 anos, sexo feminino, natural do Paraná, relatava acompanhamento há 09 meses com hematologista em Curitiba, porém sem diagnóstico. Tinha como queixa febre vespertina intermitente, perda de peso e linfonodomegalia em região inguinal esquerda. A paciente apresentava o seguinte hemograma na admissão: hemoglobina (Hb) 10,2 g/dL, hematócrito (Ht) de 31%, leucócitos 193000/mm³ (5% de bastões, 31% neutrófilos, 1% eosinófilos, 5% basófilos, 73% linfócitos, 2% monócitos) e plaquetas de 113000/mm³. Foram realizados outros exames: tomografia computadorizada de pescoço (aumento do volume das tonsilas palatinas), tórax (opacidade em vidro fosco localizada no segmento medial do lobo médio), abdome e pelve (cisto cortical renal à esquerda, imagem cística na região anexial esquerda, de provável etiologia ovariana); hemograma (Ht 10,1 g/dL, Ht 31%, leucócitos 197000 com 69,7% de linfócitos; sorologias para HIV, HBV, HCV e HTLV negativas; imunofenotipagem de sangue periférico com presença de 51,38% de linfócitos T, compatível com LLC T. Foi discutido com a paciente sobre o tratamento com Fludarabina. A médica que a atendia optou por contato telefônico com o laboratório e foi informada pela responsável que realizou leitura dos exames, inclusive imunofenotipagem, que a paciente nunca apresentou quaisquer alterações nos Resultados, sendo estes todos normais, inclusive o hemograma. Questionada sobre os Resultados a paciente confessou ter adulterado os exames e foi encaminhada para acompanhamento psiquiátrico. **Conclusão:** A SM é uma doença psiquiátrica grave motivada por uma necessidade intrínseca de receber atenção, principalmente, do ponto de vista médico-hospitalar. Em hematologia a fragilidade está na necessidade de exame laboratorial para complementar o diagnóstico, como nosso caso e, a repercussão sentimental gerada pelo diagnóstico de uma neoplasia. Alertamos para a seriedade de tal comportamento que nos coloca na frágil situação de suspeitar de algo que é fictício, e por mais estranho que isso possa parecer em 2 anos é o segundo caso que diagnosticamos na Central Clinic, o anterior já relatado no HEMO 2010.

0344

Novo ensaio para identificação de mutações no domínio PEST do NOTCH1 usando análise de fragmento e PCR alelo específico

Campregher PV¹, Petroni RC¹, Muto NH¹, Santana RA¹, Sitnik R¹, Bacal NS¹, Ramos OP¹, Oliveira GB², Hamerschlag N¹, Metz IL²

¹ Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

² Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

NOTCH1 é um proto-oncogene com mutações ativadoras descritas em uma variedade de doenças malignas, incluindo leucemia linfoblástica aguda (LLA), linfoma do manto e leucemia linfocítica crônica (LLC). Enquanto o significado prognóstico das mutações do NOTCH1 permanece controverso na LLA, dados recentes sugerem que as mutações do domínio PEST (exon 34) do NOTCH1 estão associadas a mau prognóstico em pacientes com LLC. As mutações do NOTCH1 são encontradas ao diagnóstico em cerca de 8% dos pacientes com LLC, e como a doença tem um curso clínico variado e poucos marcadores prognósticos, nós buscamos desenhar um ensaio rápido e custo efetivo para detectar mutações do domínio PEST do NOTCH1 nestes pacientes. Cerca de 92% das mutações encontradas no domínio PEST do NOTCH1 na LLC são inserções ou deleções, apenas 8% são mutações de ponto. Com isto em mente, nós optamos por utilizar um ensaio com análise de fragmento. Tendo em vista que, uma única mutação (c.7544_7545delCT) representa cerca de 75% dos casos, nós desenvolvemos um teste que pode, ao mesmo tempo, detectar a presença desta mutação especificamente, bem como, qualquer inserção ou deleção no exon 34. Desenvolvemos uma reação de PCR utilizando um *primer* forward FAM-labeled e dois *primers* reversos. Um específico para a mutação c.7544_7545delCT ancorada no codon 2414 com obtenção de um produto de 356 pares de base e outro ancorado no codon 2425, formando um produto de 391 bp, abrangendo o hot spot das mutações do NOTCH1 no domínio PEST. Os *primers* foram desenhados com o *software Primer3* (<http://frodo.wi.mit.edu/>) e a especificidade da reação foi avaliada com uso da ferramenta "PCR *in silico*" (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr?command=start>). O teste produz 3 possíveis. **Resultados:** a) Um único produto com 391 bp: amostras selvagens; b) Três produtos: (391 bp, 389 bp and 356 bp): heterozigose para c.7544_7545delCT c) Dois produtos: (391 bp e outro maior ou menor, dependendo do tamanho da inserção ou deleção): outra inserção ou deleção mas não c.7544_7545delCT Nós estudamos 46 amostras de sangue de pacientes com LLC, em vários estágios da doença, utilizando o nosso ensaio. Em 40 pacientes, não foi encontrada mutação do NOTCH1. Seis pacientes tinham um padrão compatível com a mutação c.7544_7545delCT do NOTCH1, e nenhum dos pacientes apresentou outras mutações. A prevalência das mutações do NOTCH1 foi de 13% em nossa casuística. Algumas amostras mudadas foram selecionadas para sequenciamento, e a mutação foi confirmada. Em resumo, nós desenvolvemos um ensaio consistente, rápido e custo efetivo para identificação rotineira das mutações do domínio PEST do NOTCH1 usando análise de fragmento e PCR alelo específico, para pacientes com LLC. Testes de sensibilidade, assim como a análise de novas amostras estão em andamento para implementação do teste no menu de exames do laboratório clínico do Hospital Israelita Albert Einstein.

0345

Dor no paciente paliativo hematológico na emergência

Queiroz AM, Laranjeiras AL, Ferraz T, Campos J

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: O tratamento da doença hematológica em algum momento vai requerer a integração de práticas de cuidados paliativos e isto será feito com consultas na emergência, ambulatoriais, domiciliares e internações, neste projeto iremos avaliar a admissão deste tipo de paciente numa Emergência de um Hemocentro. A experiência da dor é amplamente aceita como uma grande ameaça à qualidade de vida, e no alívio da dor surgiu como uma prioridade no atendimento no paciente paliativo. Felizmente, os avanços no tratamento da dor e no campo dos cuidados paliativos têm proporcionado tratamentos eficazes englobando abordagens farmacológicas, cognitivo-comportamental, e outros. O campo dos cuidados paliativos tem enfatizado que a atenção a sintomas como dor é parte integrante do tratamento garantindo a qualidade de vida. A dor intensa é altamente prevalente, com taxas de 40% para 70% em pacientes com câncer avançado, doença hepática, insuficiência cardíaca, e insuficiência renal. **Objetivos Principal:** Levantamento dos pacientes paliativos hematológicos que foram admitidos na Emergência durante 1 ano. **Objetivos Secundário:** Qual foi a prevalência da dor na admissão da Emergência. **Métodos:** No período de março 2011 a março de 2012, foi realizada uma estatística descritiva dos 22 pacientes paliativos hematológicos que foram admitidos na Emergência de um Hemocentro, sendo avaliado a prevalência da dor como sintoma principal da admissão. LNH - 13,7%, LLC - 18%, LMA - 13,7%, LMC - 13,7% MM - 9% SMD-LMA - 13,7% A. Aplástica - 4,6% Hemofilia - 4,6% SMD - 9%. Prevalência da dor foi de 27% como sintoma principal de admissão da Emergência. **Conclusão:** Diferente dos pacientes paliativos por doença oncologia em que 40% apresentam dor intensa nos pacientes paliativos por doença hematológica encontramos apenas 27% de prevalência de dor. A doença hematológica mais prevalente para evolução de cuidados paliativos foi a LLC, com pouca diferença das demais, neste ano de estudo.

0346

Estudo de biomarcadores relacionados ao estadiamento clínico na leucemia linfocítica crônicaSantos AL^{1,2}, Ferraz T², Dutra F², Neves MA², Brito AE², Machado CG^{1,2}¹ Universidade de Pernambuco - UPE, Recife, PE² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco - HEMOPE, Recife, PE

Introdução: A Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) é a leucemia mais prevalente no ocidente, sendo caracterizada por uma proliferação clonal de linfócitos provenientes da medula óssea que infiltram tecidos linfóides. O diagnóstico da LLC-B envolve o perfil imunofenotípico e os achados clínicos. O estadiamento clínico de Binet auxilia na determinação do grau de acometimento dos pacientes, dividindo-os em grupos de risco crescente: A (60% dos casos), B (30%) e C (10%). Estudos têm associado a expressão do CD38, uma glicoproteína multifuncional amplamente expressa nas linhagens hematopoiéticas a forma mais agressiva da doença. Posteriormente, a tirosina-quinase ZAP-70 passou a ter um papel ainda mais importante na predição do prognóstico da LLC. A literatura afirma que ambos os marcadores têm correlação indireta com o estado mutacional da região variável da cadeia pesada da imunoglobulina (*IgVh*), tornando-se uma alteração mais acessível. Outro aspecto de interesse na avaliação

prognostica da LLC, são as alterações do gene *TP53*, comuns em uma grande variedade de tumores humanos e associadas às variantes das doenças que cursam com prognóstico desfavorável e baixa resposta às terapias atuais. O códon 72 codifica um aminoácido arginina (CGC; Arg72) e uma prolina (CCC; Pro72), correspondendo desta forma a um polimorfismo arginina/prolina (Arg72Pro). Estudos sugerem que a variante Pro72 é deficiente em algumas funções anti-proliferativas da p53. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivo avaliar aspectos clínicos e biomarcadores envolvidos com o prognóstico de pacientes portadores de LLC na Fundação Hemope diagnosticados entre janeiro de 2011 e agosto de 2012. **Métodos:** Foram utilizados os achados clínicos e os exames laboratoriais de rotina, aliados à citometria de fluxo. **Resultados:** Os Resultados obtidos indicam média de idade de 71 anos (38-97); relação de gênero (M: F = 1,87: 1); mediana de adenomegalias foi de 3 sítios envolvidos, o valor médio da hemoglobina foi de 11,23g/dL (3,9-15,2), sendo 15 casos com valores menores que 10g/dL e 31 casos maiores. Valor médio das plaquetas é de 186.844/mm² (51 – 465 x 10³), sendo que 4 casos apresentam valores menores que 100.000 mm². O estadiamento clínico de Binet revelou distribuição de 28, 3 e 15 casos para A, B e C (61%, 6% e 33%), respectivamente. A contagem absoluta de linfócitos foi de 66005/mm². A positividade para CD38 e ZAP foi de 24% e 49%, respectivamente. O estudo do polimorfismo Arg72Pro do gene *TP53* foi realizado em 18 casos, estando ausente em todos os casos estudados (heterozigotos). O a droga mais utilizada para tratamento foi o Clorambucil (79%). **Conclusão:** Os achados epidemiológicos mostram-se compatíveis com os relatados por outros centros, exceto pela inversão nos valores esperados para os estádios B e C, refletindo uma maior gravidade da doença ao diagnóstico. As positivities dos marcadores também se mostrou compatível com os relatados por outros centros. O estudo do polimorfismo Arg72Pro, ainda incipiente, não nos permitiu fazer qualquer inferência a respeito da sua relação com a gravidade da doença. Quanto ao tratamento, o Clorambucil permanece como primeira escolha para os pacientes de LLC da Fundação Hemope. A implantação do estudo molecular, a exemplo do que ocorre em outros centros, nos permitirá aprofundar o conhecimento genético a respeito dos pacientes da nossa localidade.

0347

Myeloproliferative neoplasm with BCR-JAK2 fusion gene as the result of t(9;22)(p24,11.2) in a Brazilian patient

Dias DF, Bellesso M, Santucci R, Elias RC, Oliveira VR, Centrone R, Alves A

HEMOMED

Introduction: Chronic Myeloid Leukemia (CML) is the most well described disease result of t(9;22)(q34,q11.2). This chromosomal rearrangement leads to well-know *BCR-ABL* fusion that promotes tyrosine kinase activity. There are others oncogenic BCR fusion found such as *PDGFRA* (4q12), *FGFR1*(8p12) that causes myeloproliferative disorders (MD). *JAK2* gene is one of the 4 genes members of *JAK* family. The *JAK2 V617F* mutation which results substitution of valine by phenylalanine. It is associated with MD and it is a diagnosis criterion for Primary Myeloficrosis, Polycythemia vera and Essential thrombocytemia. There are described a lot chromosomal translocations involving the *JAK2* locus. We report an extremely rare case with *BCR-JAK2* fusion gene as the result of t(9;22)(p24,q11.2) for the first time in Brazilian people, and it is the 6th case all of the world. Case Report: In April 2010, a 54 years old male patient presented fatigue, abdominal pain and splenomegaly. A blood count revealed leukocytosis 93.380/mm³ with a predominance of neutrophils and left shift. Conventional cytogenetic analysis was performed and it was evidenced 46,XY, t(9;22)(p24;q11.2)

in 90% metaphases examined, due to expected association it was promoted *BCR-ABL1* fusion gene and it was not detected by using RT-PCR. He was treated with imatinib 400mg/day because the involvement of BCR gene. After three months he presented weight loss, progressive splenomegaly without hematologic response and it was modified to Dasatinib 150mg/day plus hydroxyureia 3g/day. In August 2011, due to not hematologic response, it was stopped Dasatinib treatment and nowadays patient has been treating with hydroxyureia 1.5g/day. His last follow up in May 2012, blood count was abnormal Hb 16.8g/dl leukocytes 7730/mm³ and low platelets count 32.000/mm³. The differential count showed 65.3% segmented granulocytes, 13.6% eosinophils, 1.6% basophil, 2.6% monocytes, 16.9% lymphocytes. It was repeated conventional Karyotyping and it was evidenced 46,XY, t(9;22)(p24;q11.2) in all of metaphases examined. The presence of *BCR-ABL* rearrangement was excluded by using the fluorescence *in situ* hybridization (FISH) using a *BCR-ABL* probe. In addition, it was not evidenced *FIP1L1-PDGFRa* fusion gene and *JAK2 V617F* mutation by using RT-PCR. **Discussion:** We have described a male patient with MD with t(9;22)(p24;q11.2) which leads to the *BCR-JAK2* fusion and it was not evidenced *BCR-ABL1*, *FIP1L1-PDGFRa* fusion genes and *JAK2 V617F* mutation by using RT-PCR. Moreover, patient has not been achieved hematologic response with tyrosine kinase inhibitors: imatinib and dasatinib. In the five cases reported three presented MD, one Acute Myeloid Leukemia and one Acute Lymphoblastic Leukemia. Only in one case report it was prescribed imatinib and the patient lost the follow up. The *BCR-JAK2* fusion protein contain the coiled-coil dimerization domain of BCR and the protein tyrosine Kinase domain (JH1) of JAK2. It was not possible to define what would be the best therapy, because tyrosine kinase inhibitors may not be effective to the *BCR-JAK2* fusion. Maybe in MD presentation, we could return to pre-tyrosine kinase inhibitors era based on treatments with hydroxyureia, subcutaneous cytarabine and interferon for patients that were not potential candidates for allogeneic transplant.

0348

Diagnóstico de doença linfoproliferativa crônica de células NK por citometria de fluxo

Faria MF, Ritter EC, Silva AC, Maekawa Y, Tamashiro N, Takao TT, Souza FA, Rizzatti EG, Sandes AF

Grupo Fleury, São Paulo, SP

Introdução: As neoplasias de células *natural-killer* (NK) são raras, representando menos que 1% dos linfomas não-Hodgkin. Apresentam um curso clínico heterogêneo, incluindo desde subtipos mais indolentes, como a doença linfoproliferativa crônica de células NK (DLPC-NK), até formas graves, como a leucemia de células NK agressiva, caracterizada por sobrevida de no máximo algumas semanas. A DLPC-NK é caracterizada por aumento de células NK em sangue periférico (>2x10⁹/L) sem causa identificada, sendo difícil distinguir entre condições neoplásicas e reacionais. Seja pela heterogeneidade na apresentação clínica, seja pelas dificuldades em se estabelecer a natureza clonal da proliferação dessas células, a imunofenotipagem por citometria de fluxo é uma ferramenta importante na investigação desses casos. Células NK expressam os antígenos CD56, CD16, CD57, CD2, CD7 e apresentam dupla população para o CD8, não existindo anormalidades da expressão destes antígenos em células NK de indivíduos saudáveis. Ainda que possam ocorrer algumas alterações no padrão de expressão antigênica de células NK em quadros reacionais, fenótipos claramente anormais, como a perda de expressão dos antígenos CD56 e/ou CD57, são muito mais frequentes nas doenças clonais. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil de expressão antigênica por citometria de fluxo em pacientes com aumento de células NK. **Métodos:** Num período de 47 meses, foram estuda-

das amostras de SP de 12 casos consecutivos com linfocitose NK, com mediana de idade de 63 anos (10 – 83a), sendo 5 homens e 7 mulheres. Citometria de fluxo de 4 cores foi realizada utilizando um amplo painel de anticorpos monoclonais, e os casos foram analisados com o *software* Infinicyt (Cytognos). **Resultados:** Seis casos foram diagnosticados como DLPC-NK e apresentavam número mediano de linfócitos NK de 6803/mm³ (680-12000). Todos os casos expressaram CD16 e CD2, porém, em 83,3% dos casos (5/6) houve perda de expressão do CD56; em 33,3% (2/6), perda de CD57; em 50% (3/6) não houve expressão do CD8; e um caso apresentou expressão parcial de CD7. A perda de expressão do CD56 foi a única anormalidade fenotípica encontrada em metade dos casos, e no único caso CD56+, o achado aberrante foi a perda de expressão do CD57 e CD8, em associação à expressão anômala de CD26. Adicionalmente, os antígenos HLA-DR (4 casos), CD11c (3 casos) e CD38 (4 casos) foram expressos nos casos de DLPC-NK avaliados. Três casos foram classificados como reacionais após investigação e seguimento clínico e apresentaram expressão normal dos antígenos CD16, CD56, CD57, CD2, CD7 e CD8, com 1/1 caso apresentando expressão parcial de HLA-DR. Os três casos restantes apresentaram expressão normal dos antígenos estudados, mas ainda continuam em seguimento clínico para definição diagnóstica. **Discussão:** O diagnóstico das neoplasias de células NK requer integração de dados clínicos, morfológicos, imunofenotípicos e moleculares. A imunofenotipagem por citometria de fluxo é uma importante ferramenta no diagnóstico dessas neoplasias, uma vez que permite a identificação e a quantificação de células NK, e auxilia na diferenciação de estados neoplásicos de quadros reacionais, através da detecção de fenótipos aberrantes. A principal anormalidade encontrada em nosso estudo foi a perda de expressão do antígeno CD56, detectada em mais de 80% dos casos de DLPC-NK.

0349

Leucemia de células pilosas: uma breve revisão

Rosa ML, Silva FS, Juvenale M

Centro Universitário São Camilo – CUSC, São Paulo, SP

Leucemia de células pilosas (LCP, em português, ou HCL, do inglês *hairy cell leukemia*), também conhecida como “tricoleucemia”, é desordem linfoproliferativa crônica rara que representa 2% de todas as leucemias adultas. Geralmente acomete indivíduos caucasianos com idade média de 55 anos, atingindo principalmente o sexo masculino. A doença é caracterizada pela infiltração de células-B neoplásicas na medula óssea, fígado, baço e linfonodos. Estas células são pequenas, com nucléolos ausentes ou discretos, citoplasma abundante eosinofílico que apresentam projeções longas e delgadas semelhantes a “cabelo”. Os principais sinais e sintomas são pancitopenia, febre, fadiga, esplenomegalia, anemia, trombocitopenia e leucopenia. O diagnóstico é baseado, inicialmente, na visualização de células pilosas em sangue periférico ou em mielograma e na positividade para a reação de fosfatase ácida tartarato-resistente. a imunofenotipagem é imprescindível para o diagnóstico diferencial por se tratar de uma doença com características semelhantes a outras também linfoproliferativas, como leucemia linfóide crônica (LLC), linfoma esplênico de células vilosas (LECV) e LCP-variante. Três marcadores são particularmente úteis no diagnóstico da tricoleucemia: as células pilosas apresentam forte expressão de CD11c e quase sempre são positivas para CD25 e CD103. LECV e LCP-variante pouco apresentam coexpressão dessas três moléculas. LCP-variante representa 0,4% das neoplasias linfóides crônicas e 10% de todos os casos de tricoleucemia. Alguns pacientes, menos que 5%, não necessitam de terapia. Isso ocorre porque apresentam leve citopenia, não são dependentes de transfusões, não possuem histórico de infecções e possuem um baixo nível de infiltração de medula por células

plilas. Para pacientes com doença sintomática com fadiga, ou desconforto devido à esplenomegalia, deve ser considerado o tratamento medicamentoso. É recomendado o início do tratamento quando a trajetória da doença alcançar contagem de plaquetas menor que 100.000 por mililitro de sangue ou contagem absoluta de granulócitos menor que 1.000. Cerca de 90% dos casos de LCP apresentam esplenomegalia, por isso a esplenectomia foi o primeiro tratamento eficaz antes do surgimento dos quimioterápicos como o interferon-alfa, análogos de nucleosídeos, cladribina, pentostatina e rituximab. Antes do início da utilização de interferon-alfa e análogos de nucleosídeos, a média de sobrevivência para pacientes com LCP era de 4,6 anos para pacientes não esplenectomizados e de 6,9 anos para esplenectomizados. Cerca de 85% dos pacientes tratados com cladribina ou pentostatina possuem expectativa de vida de 10 anos.

0350

Relato de Caso: trombocitemia essencial em paciente com diagnóstico prévio de leucemia linfóide crônica

Mauad VA¹, Oliveira MS¹, Savioli ML¹, Poblete NC¹, Vieira J¹, Vieira FC¹, Silva IV¹, Bassit RP^{1,2}, Borduchi DM^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP

² Central Clinic

Introdução: A leucemia linfóide crônica (LLC) é uma doença linfoproliferativa crônica que apresenta características epidemiológicas peculiares; acomete indivíduos com idade mais avançada, é rara abaixo dos 30 anos e não ocorre em crianças. É a leucemia mais comum nos países ocidentais enquanto muito rara nos orientais. A associação com doenças hematológicas benignas como Anemia Hemolítica Auto-imune (AHAI) e Púrpura Trombocitopênica Imunológica (PTI), assim como com tumores sólidos é observada com certa frequência, no entanto sua associação com doenças mieloproliferativas crônicas é rara. A Trombocitemia Essencial (TE) é uma doença mieloproliferativa crônica da série megacariocítica, evoluindo com plaquetose persistente e fenômenos hemorrágicos e/ou trombóticos. **Objetivos:** Relatar o caso de uma paciente de 62 anos, a bordada em serviço particular em Santo André, com diagnóstico prévio de LLC, Binet A, em W/W que havia iniciado quadro de plaquetose persistente em exames de acompanhamento trimestral da LLC. Na avaliação diagnóstica da plaquetose os exames apontaram para TE. BMO hiperclular com hiperplasia megacariocítica. Paciente em uso de hidroxiuréia mantendo níveis plaquetários abaixo de 500.000 pl/mm³. **Conclusão:** no passado desacreditávamos na possibilidade da associação de duas doenças onco-hematológicas envolvendo linhagens distintas, no entanto, é possível e o arsenal diagnóstico atual é capaz de demonstrar esta associação de maneira confiável.

0351

Resposta molecular ao imatinibe em pacientes em fase acelerada

Cruz MM¹, Bonecker S¹, Scholl V¹, Cappelletti PA¹, Coelho AM², Solza C³, Dobbin JA², Renault IZ¹

¹ Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea - CEMO, Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Serviço de Hematologia, Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Serviço de Hematologia, Hospital Universitário Pedro Ernesto - HUPE, Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma neoplasia hematológica caracterizada em 95% dos casos pela presença de uma translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, que resulta em um cromossomo marcador chamado “Philadelphia” (Ph). O curso clínico da LMC é caracterizado por 3 estágios hematológicos e temporais diferentes. No estágio inicial chamado de fase crônica (FC), a doença tem um curso indolente e até pode ser assintomática. No entanto, se não tratada, este comportamento indolente muda drasticamente entre 1 e 4 anos após o diagnóstico, quando a doença evolui para uma fase acelerada (FA) e progride para uma fase aguda ou crise blástica (CB), caracterizada pela proliferação de células indiferenciadas que sofreram uma parada na maturação. O gene de fusão formado (*BCR-ABL*) leva a produção de um RNA mensageiro quimérico e a expressão da proteína de fusão (*BCR-ABL*) com atividade de tirosina quinase constitutiva, desregulando diversas vias de sinalização e provocando, por exemplo, um aumento da proliferação celular, resistência a apoptose e modificação das características de adesão celular. O desenvolvimento do Imatinibe (IM), a primeira droga alvo-específica inibidora da atividade quinase (ITK), e sua introdução na prática clínica modificou radicalmente o tratamento da LMC, tornando necessário o estabelecimento de novos parâmetros para definição de resposta terapêutica. Tal resposta é estabelecida de acordo com níveis crescentes de sensibilidade: Resposta Hematológica (RH), Resposta Citogenética (RCg) ou Resposta Molecular (RM). Porém estudos prévios mostram que os Resultados são melhores em pacientes em FC, quando comparados com os que estão em FA ou CB. **Objetivo:** Este trabalho teve objetivo avaliar a resposta ao pacientes em fase acelerada tratados com IM. **Métodos:** Foram avaliadas a Resposta Molecular (RM) em 221 pacientes com LMC provenientes do INCA e do HUPE (UERJ); entre esses, apenas 15 deles já estavam em FA quando começaram o tratamento e foram classificados de acordo com os seguintes parâmetros: Ausência de RM corresponde a valores de $BCR-ABL/ABL^{IS} \geq 10\%$ (^{IS}= Escala Internacional, que é média ponderada dos níveis *BCR-ABL* de pacientes com LMC ao diagnóstico convertida a um valor teórico de 100%); RM Mínima = de 10 a 1 ^{IS}, RM Menor = de 1 a 0,1 ^{IS}, RM Maior = 0,1 ^{IS}, RM Completa = valores indetectáveis do transcrito *BCR-ABL* através da técnica qRT-PCR. **Resultados:** Para os pacientes em FA, os melhores Resultados foram obtidos com uma dose diária de 600 mg. Em 41% dos casos houve troca do ITK, pelas seguintes razões: 78% por resistência, 6% por falha terapêutica e 6% por toxicidade hepática. De todos os casos em FA, 21,7% havia presença de mutação no domínio tirosina-quinase do gene *ABL* e em 84% destes casos houve mudança de ITK. Destes 95,8 % apresentaram taxas de Resposta Hematológica Completa aos 3 meses, minimamente RCgC de 64,2% entre 12 e 24 meses e em 31,5% dos casos foi obtido RMMaior ou RMCompleta no período de 18 a 30 meses. **Conclusão:** A monitoração molecular por RT-qPCR e a análise do *status* mutacional dos pacientes em uso de IM permite a intervenção terapêutica para o paciente com LMC. O aumento da coorte de estudo e a análise seriada dos pacientes para manejo clínico-terapêutico do paciente estão em andamento.

0352

Expressão da ZAP-70 em leucemia linfocítica crônica: Métodos de análise e correlação com estado mutacional IGVH

Faria MF, Siufi GC, Goncalves MV, Borges FF, Kimura EY, Cavalcante EM, Guirao FP, Rodrigues CA, Yamamoto M

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Introdução: O papel da quinase ZAP-70 como fator de prognóstico independente na LLC é bem conhecido. A sua expressão é comumente estudada por citometria de fluxo (CF) por ser uma

técnica rápida e simples. Há, porém, grande variabilidade nos Métodos e formas de análise utilizados para a sua avaliação, não se mostrando um teste reprodutível, o que restringe sua aplicação na clínica. Tentativas de padronização da técnica e de diferentes Métodos de análise têm sido feitas. **Objetivos:** Avaliar a expressão da proteína ZAP-70 em LLC, determinada através da porcentagem de positividade comparada ao controle isotipo, ao controle T e da relação entre a IMF T/B e correlacioná-la com o estado mutacional *IgVH*. **Métodos:** A expressão da ZAP-70 foi reanalisada em 114 casos de LLC [61 M, idade mediana =66 (variação 34 a 96) anos]. Cem pacientes tinham estudo do estado mutacional *IgVH* (50M e 50NM) Em 51 casos (grupo I) foi utilizado material criopreservado ou células separadas por gradiente Ficoll-Hypaque e a marcação indireta com Ac anti-ZAP-70 (clone 2F3.2, Upstate) e um segundo Ac anti-Ig de camundongo/FITC (DAKO). As células foram também marcadas com CD19/PE e CD3/PerCP e utilizou-se IgG2 de camundongo como controle negativo. Permeabilização foi feita com paraformaldeído e sol. saponina. Em 63 casos (grupo II) foi utilizado sangue periférico total, marcação direta com anti-ZAP/PE (clone IE7.2, Caltag), além de CD3/PerCP, CD19/FITC, CD5/APC (superfície). Permeabilização com FIX&PERM (Caltag). Em ambos os Métodos foi utilizado citômetro FACSCalibur (BD) e programa CellQuest (BD). Para ambos os grupos, a análise foi feita calculando-se a positividade em relação ao controle isotipo (% ISO), à expressão ZAP nos linfócitos T (%T) e a relação IMF/T/B (T/B). Usou-se como corte o valor 20% para %ISO e %T e 4,4 para rel. T/B (curva ROC). Os Resultados foram comparados com mutação *IgVH*, utilizando-se o teste de Fisher. **Resultados:** No grupo I a positividade do ZAP foi: 54,9% pela %ISO, 46% pela %T e 38,5% pela T/B. Dos casos estudados 17/37 eram *IgVH* M e 20/37 NM. A expressão ZAP+ pelas 3 técnicas correlacionou-se com o *IgVH* NM, sendo que o %ISO ($p < 0,0001$) mostrou-se o melhor método seguido de T/B ($p = 0,006$) e %T ($p = 0,06$). A concordância dos Resultados ZAP/*IgVH* foi 86% (%ISO), 75% (%T) e 78,5% (T/B). No grupo II houve 33 casos *IgVH* M e 30 NM. Com relação à avaliação da ZAP-70, no entanto, houve grande discrepância entre os Resultados obtidos pelos 3 Métodos. Foi positiva em 66% (%ISO), 84% (%T) e 11% (T/B) e não foi possível estabelecer correlação entre a expressão ZAP-70 e estado mutacional *IgVH*. **Conclusão:** Em nossa avaliação, a técnica de marcação indireta mostrou boa correlação com o estado mutacional *IgVH*. Os melhores Métodos de análise foram os obtidos com uso do isotipo como controle negativo ou pela relação da expressão em IMF entre o controle positivo T e B LLC.

LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA E OUTRAS SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS INCLUINDO AS POLICITEMIAS

0353

Tyrosine kinase inhibitors modulate the apoptomirs: miR-let-7d, miR-15a, miR-21, miR-130a, miR-142-3p and miR-145 expression in Bcr-Abl positive cells

Ferreira AF¹, Moura LG¹, Simões BP², Tojal I³, Kashima S³, Covas DT³, Castro FA¹

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - FCFRP, Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP

² Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Background: The oncogene *bcr-abl* codifies the *BCR-ABL* tyrosine kinase which is responsible for cell malignant transformation and apoptosis resistance in Chronic Myeloid Leukemia (CML). CML patients are usually treated with imatinib mesylate (IM), a tyrosine kinase inhibitor (TKI). Unfortunately, resistance to TKI emerges, especially in CML patients in advanced phases. Thus, others molecules have been investigated as potential secondary targets for CML therapy. In this context, the present study investigates the microRNAs, which have target genes involved in apoptosis regulation in *BCR-ABL*⁺ cells. Aim: To quantify the microRNAs miR-let-7d, miR-15a, miR-21, miR-130a, miR-142-3p and miR-145 in HL-60.*Bcr-Abl* cells treated with imatinib mesylate (IM), dasatinib (DAS) and nilotinib (NIL). **Methods:** HL-60.*Bcr-Abl*⁺ was obtained by the HL-60 infection with the recombinant retrovirus ($\psi 2 + PA 317$) containing the pSR MSV p185^{bcr-abl} tkneo plasmid. The HL-60.*Bcr-Abl* cells were cultured in complete RPMI medium with 10 mM of IM and 5 nM of DAS and NIL during four and eight hours. After this period, RNA from cell lines were extracted, RNA were reverse transcribed into cDNA and real time PCR were performed to quantify miRNAs expression. The results of miRNAs expression were given as fold change (fc) between HL-60.*Bcr-Abl*⁺ treated with TKIs and untreated HL-60.*Bcr-Abl*. **RESULTS:** IM up-regulated miR-let-7d after four hours (fc=4.67), miR-15a after eight hours (3.13) and miR-130a after four hours (7.0) of treatment in HL-60.*Bcr-Abl*. DAS up-regulated miR-15a after four hours (4.18), miR-21 after four (6.0) and eight hours (11.7), miR-130a after eight hours (6.93) and miR-142-3p after eight hours (7.12) of treatment in HL-60.*Bcr-Abl*. In contrast, NIL down-regulated miR-15a expression after four hours (3.97) and eight hours (2.91). On the other hand, miR-130a and miR-145 expressions were up-regulate by NIL after eight hours (2.69) and four hours (11.97), respectively. **Conclusion:** TKIs are capable of modulating the microRNAs miR-let-7d, miR-15a, miR-21, miR-130a, miR-142-3p and miR-145 expression which are involved in apoptotic machinery regulation in *BCR-ABL*⁺ cells. Thus, it seems that miRNAs expression profile may contribute to TKI response and suggest the potential of miRNAs as a new marker of CML prognosis. Supported by FAPESP: 06/50094-8 and 08/52049-5 Key words: *BCR-ABL*, tyrosine kinase inhibitors, microRNAs and CML.

0354

Three-dimensional nuclear telomeric organization (3d) of chronic myeloid leukemia patients predicts accelerated phase and blast crisis

Oliveira FM¹, Silva FP¹, Alves AP¹, Simões BP¹, Rego EM¹, Gadjji M², Falcão RP¹, Mai S²

¹ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² The University of Manitoba, Manitoba Institute of Cell Biology, Winnipeg, Manitoba, Canada

One major cause of genomic instability and cellular apoptosis is telomere dysfunction. Telomere loss or dysfunction results in breakage-bridge-fusion cycles, aneuploidy, and ongoing chromosomal abnormalities. The three-dimensional (3D) nuclear organization of telomeres allows for a distinction between normal and tumor cells: nuclei of the latter tend to be disorganized and commonly contain telomeric aggregates. However, few studies have addressed the impact of telomeres in myeloid leukemia patients (CML) progression. The frequency of additional chromosomal abnormalities in CML is around 5% in chronic phase and increases to 50–80% in the advanced phases. Clonal evolution often precedes progression and is predictive for inferior therapeutic outcome. In order to better understand cellular and molecular mechanisms in CML progression, the objectives of this investigation were examine telomere dysfunction and alterations in the 3D nuclear telomere architecture. Eighteen CML patients, in total, 54 bone marrow samples (chronic phase, ac-

celerated phase and blast crisis) were eligible for 3D nuclear telomeric investigation. The quantitative FISH (QFISH), cytologic diagnosis and the cytogenetic determination for additional chromosomal abnormalities were assessed according to standard protocols. 3D image analysis on 30 interphase nuclei per slide was obtained by using an Axio Imager A1 microscope (Carl Zeiss, USA). Sixty z-stacks were acquired at a sampling distance of x,y: 102 nm and z: 200 nm for each slice of the stack. AxioVision 4.8 software (Carl Zeiss, Canada) was used for 3D image acquisition, and deconvolution analysis. Three CML subgroups were defined on the basis of their 3D telomeric profiles. The telomeric parameters (number, length, telomere aggregates and nuclear volumes) were compared between these three subgroups. Distribution of telomere intensities in CML phases was compared between the patient's subgroups. All patients of a same subgroup displayed similar 3D telomeric profiles. Comparison with clinical diagnosis after the classification according to telomere profile showed that all CML patients were classified in the three distinct subgroups. Statistical analyses showed significant differences between the CML subgroups ($P < 0.001$). Each of the quantitative telomere parameters exhibited significant differences. Furthermore, statistical analyses combining all 3D telomere parameters revealed significant differences between all subgroups ($P < 0.05$). According to our data these profiles are correlated to the disease evolution and increased telomere dysfunction in these subgroups. It seems that the evolution of CML progresses from low to high level of telomere dysfunction, that is, from early stage to more aggressive stage, followed by disease transformation. We concluded that telomere 3D organization is a highly accurate tool to distinguish CML stages. We propose that monitoring 3D telomere dysfunction might be a very powerful marker to measure this transformation. Furthermore, it may be a better indicator of therapeutic response because an optimal response will lead to a normal cellular biology, including elimination of abnormal telomeric aggregates and the increase of normal 3D telomeric profiles. **Financial Support:** FAPESP (2011/01647-2).

0355

Níveis séricos de nitrato e malonaldeído podem indicar resistência ao tratamento com imatinibe em pacientes com leucemia mielóide crônica

Goncalves RP¹, Petrola MJ¹, Barbosa MC¹, Castro AJ², Pitombeira MH¹, Quixadá AT², Arruda AB¹, Souza IP¹, Duarte FB¹, Ribeiro RA¹

¹ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

² Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE, Fortaleza, CE

A Leucemia mielóide crônica (LMC) é uma neoplasia caracterizada pela expansão clonal de células progenitoras hematopoéticas, resultante da translocação (9: 22) q(34;11). O mecanismo pelo qual essa translocação ocorre ainda é desconhecido. No entanto, estudos sugerem que o estresse oxidativo possa estar envolvido na gênese, progressão e resistência ou intolerância ao tratamento na LMC. O objetivo do estudo foi investigar o perfil de marcadores de dano oxidativo em pacientes com LMC em tratamento com inibidores de tirosina quinase (TKI). Participaram do estudo 64 pacientes adultos, de ambos os sexos, com diagnóstico de LMC, acompanhados em hospital de referência em Fortaleza, Ceará. Os critérios de exclusão foram: hábitos etilistas e/ou tabagistas e uso de medicamentos ou vitaminas com ação antioxidante. Os pacientes foram estratificados de acordo com o **tratamento:** Imatinibe (n=31) e TKI de segunda geração (n=33). Os níveis de nitrato e malonaldeído (MDA) foram determinados por Métodos espectrofotométricos. Dentre os pacientes tratados com TKI de segunda geração 21 (63,6%) estavam em fase acelerada ou crise blástica, enquanto que nos pacientes tratados com Imatinibe, este achado foi verificado em 6 (19,5%) pacientes. Os valores médios de nitrato e MDA foram significativamente elevados nos pacientes tratados com TKI

de segunda geração em relação aos tratados com Imatinibe. Os Resultados do presente estudo sugerem que a elevação nos níveis dos marcadores de dano oxidativo pode indicar resistência ao tratamento com Imatinibe.

0356

Novel anticancer compound induces apoptosis and modulates the activity of pgp in K562 and K562-Lucena cell lines

Silveira AL¹, Júnior ALA¹, Vasconcelos FC², Faria FC², Maia RC², Araújo DA¹

¹ Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

² Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introduction: Resistance to chemotherapy agents is the main reason for treatment failure in patients with cancer, and multidrug resistance (MDR) occurs in many types of tumors. The main mechanism that gives rise to the MDR phenotype is the overexpression of drug efflux transporters such as the P glycoprotein (Pgp) in the plasma membrane. Apoptosis and anti-apoptosis pathways are also deeply related to drug sensitivity and resistance. Therefore, the development of compounds that modulate the activity of Pgp and induce apoptosis is one of the therapeutic strategies in the field of oncology.

Methods: The cytotoxic effect of a novel podophyllotoxin derivative was evaluated in chronic myeloid leukemia cell lines K562 and K562-Lucena (a cell line overexpressing P-glycoprotein). Cells were treated with the derivative A398 (2 - 50 μ M) for 24, 48 and 72h. Etoposide (1 - 100 μ M) was used as a positive control. The cell viability was analyzed by the MTT assay. To assess the type of cell death induced, cells were incubated with the derivative A398 (4, 6, 8 and 10 μ M) for 48 hours. Flow cytometry was performed for detection of phosphatidylserine exposure. The expression of anti-apoptosis proteins survivin and XIAP in leukemia cell lines, treated with 8 μ M derivative A398 for 24, 48 and 72 hours, was evaluated by western blot. For Pgp activity, K562-Lucena cells were incubated with the derivative A98 (4 - 25 μ M) and functional evaluation of rhodamine 123 efflux was carried out by flow cytometry. **Results and Discussion:** The derivative A398 reduce cell viability in a time and concentration dependent manner. The IC_{50} values of K562 and K562-Lucena cells after A398 treatment for 72 hours were $8.1 \pm 2.0 \mu$ M and $8.6 \pm 1.8 \mu$ M, respectively. Etoposide was not cytotoxic to K562-Lucena cell line. Flow cytometry analyses showed that A398 induced apoptosis in a concentration-dependent manner. When the cells K562 and K562-Lucena were treated with 8 μ M of derivative A398, the percentage of apoptotic cells was $83.0 \pm 2.85\%$ and $75.2 \pm 2.46\%$, respectively. In these cell lines, apoptosis induced by derivative A398 was accompanied by a reduction of anti-apoptotic proteins XIAP and survivin expression. In K562-Lucena cell line, this inhibition being significant only at 72 hours. The derivative A398 decrease efflux activity of Pgp at all concentrations, suggesting that induction of apoptosis in K562-Lucena cells may be related to the inhibition of Pgp. These results show that the derivative A398 has an anticancer potential.

Financial Support: CAPES, CNPq

0357

Anemia ferropriva mascarando o diagnóstico de policitemia vera

Gil MV¹, Cursino MB¹, Figueiredo CB¹, Arcuri IEP^{1,2}, Filho MRA², Zalberg I², Gonzaga YB^{1,2}

¹ Hospital Federal de Bonsucesso – HFB, Rio de Janeiro, RJ

² Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A policitemia vera (PV) é uma doença mieloproliferativa crônica. Apresenta-se mais comumente na 6ª década e é frequen-

temente diagnosticada em pacientes assintomáticos em que o hemograma mostra aumento da hemoglobina, geralmente associado a leucocitose e trombocitose. A trombose é a principal manifestação e causa de óbito na PV. Menos frequentemente, contagens de plaquetas muito elevadas ($>1 \times 10^9/\text{ml}$) aumentam risco de sangramento pela síndrome de vonWillebrand adquirida, por redução dos multímeros de alto peso molecular, que aderem à membrana das plaquetas. O diagnóstico da PV baseia-se em níveis elevados de Hb associados à presença de mutação do *JAK2* e outros critérios, como a hiperplasia das 3 linhagens na medula óssea e níveis reduzidos de eritropoetina. O tratamento mais utilizado é a flebotomia, associado ou não à hidroxiuréia (HU) e à baixas doses de AAS. Caso: Masculino, 63 anos. Encaminhado ao ambulatório de Hematologia para avaliação de anemia microcítica e trombocitose. O hemograma apresentava leucocitose $13600/\text{ml}$, Hb 11g/dl , VCM 69fl e plaquetas $1.39 \times 10^9/\text{ml}$. Relatava vários episódios de enterorragia no último mês. Na semana anterior, apresentou dor súbita em hipocôndrio esquerdo. Ao exame físico, o único achado digno de nota era esplenomegalia. Foi iniciada reposição de ferro oral por suspeita de anemia ferropriva (confirmada através da dosagem de ferritina: 8mg/ml). Solicitada endoscopia digestiva alta (EDA), colonoscopia e Tomografia Computadorizada (TC) de Abdome. A EDA evidenciou úlceras gástricas e duodenais, sem malignidade ao exame histopatológico e positividade para *H. pylori*, que foi tratada. A colonoscopia mostrou doença diverticular não complicada. A TC Abdome evidenciou baço aumentado, com área arredondada hipodensa, sugestiva de hematoma esplênico. Dois meses após o início da reposição com ferro oral, o paciente ainda apresentava trombocitose acima de $1 \times 10^9/\text{ml}$. Os níveis de Hb atingiram 18g/dl e Ht 56% . Ao exame físico apresentava-se pleurítico. Foi então suspeitado de PV, mascarada por anemia ferropriva (AFP) por sangramento gastrointestinal e esplênico secundários à síndrome de vonWillebrand adquirida. Realizada pesquisa da mutação V617G do gene *JAK2*, que estava presente, corroborando o diagnóstico. Iniciado tratamento com HU, sem AAS. Após 6 meses, o paciente encontra-se assintomático, sem sangramento e com hemograma normal. **Discussão:** Relatamos o caso de um paciente com PV e apresentação atípica, com AFP secundária a sangramento gastrointestinal. A trombocitose foi considerada reacional e encaixava no diagnóstico de deficiência de ferro. Após a reposição de ferro, os níveis de hemoglobina atingiram valores bem acima da normalidade, quando então pensou-se na possibilidade de PV. Apesar de não dispormos de dosagem de eritropoetina em nossa instituição e não haver sido realizada BMO, consideramos a presença da mutação do *JAK 2* (realizada no Laboratório de Biologia Molecular do INCA) associada aos níveis elevados de Hb, dentro do contexto clínico, suficientes para o diagnóstico. Optamos por iniciar HU no lugar da flebotomia para controle concomitante da trombocitose e não iniciamos AAS pela história de sangramento gastrointestinal. **Conclusão:** A AFP pode ser uma forma rara de apresentação da PV. A presença de esplenomegalia em um paciente com AFP e, principalmente, a ascensão da Hb para níveis muito elevados após reposição de ferro devem levar à suspeita de PV.

0358

Monitoramento na leucemia mielóide crônica a partir do desenvolvimento de banco de dados

Bitencourt R¹, Louro ID¹, Zalberg I²

¹ Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Vitória, ES

² Instituto Nacional de Câncer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A pesquisa translacional é uma disciplina que torna os Resultados da pesquisa básica aplicável para o uso clínico. De fato, a Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é o paradigma da aplicação dos Métodos moleculares na prática clínica, tendo sido a primeira evidência de associação entre uma anomalia cromossômica, o cromossomo *Philadelphia* (Ph), e uma neoplasia. Recentemente, a translação do desenvolvimento técnico-científico para a clínica

permitiu a quantificação do gene de fusão *BCR/ABL* para avaliação da resposta terapêutica a um inibidor tirosina quinase (ITK) e a avaliação da presença de mutações no domínio tirosina quinase (DTK) do *ABL* para avaliação de mutações pontuais indicativas de resistência ao ITK. A avaliação da resposta molecular em amostras seriadas de um paciente com LMC ao longo do tratamento com um ITK de primeira ou segunda (ITK2G) e a base para a discriminação precoce de respondedores ótimos em relação aqueles que irão falhar a terapia com ITK. Diante desse cenário a criação de um banco de dados clínico e laboratorial contribui para o acesso rápido de informações de interesse ao tratamento, além de representar um meio confiável e de baixo custo em qualquer tipo de serviço. **Objetivo:** Desenvolver um banco de dados para monitoramento dos pacientes de LMC em uso de TKI e/ou submetidos ao Transplante de Medula Óssea. **Métodos:** O desenvolvimento do banco de dados envolveu quatro etapas: (1) levantamento de dados clínicos dos pacientes, (2) levantamento de dados laboratoriais dos pacientes, (3) desenvolvimento de modelo de banco de dados no Microsoft Access® para a sistematização das informações do paciente e (4) integração e centralização das informações clínicas e laboratoriais no modelo de banco de dados desenvolvido no Microsoft Access®. **Resultados:** O desenvolvimento do banco de dados facilitou o acesso às informações dos pacientes permitindo uma busca rápida, podendo listar os pacientes com resposta molecular maior, aos pacientes que foram submetidos à pesquisa de mutação, o número total de pacientes monitorados, quantos pacientes são monitorados por mês, previsão dos pacientes que retornarão a ser monitorado a cada três meses, entre outras informações. **Conclusão:** O desenvolvimento do banco de dados no Microsoft Access® é importante porque agiliza e facilita o acompanhamento dos pacientes com LMC favorecendo o manejo desses pacientes e a compreensão da evolução da doença, tratamento e recidivas. Além disso, as variantes que envolvem o paciente, tais como as características individuais do paciente, condição clínica, co-morbidade e os Resultados laboratoriais podem ser analisados em conjunto em um só lugar, permitindo ganho de tempo para intervir em situações de recaída. Resultados deste banco de dados podem ser encontrados no trabalho de Bonecker *et al.* HEMO 2012.

0359

Leucemia mielóide crônica: uma revisão dos inibidores de tirosina quinase

Bitencourt R¹, Zalberg I², Louro ID¹

¹ Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Vitória, ES

² Instituto Nacional de Câncer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: Mutação no domínio quinase do *BCR-ABL* é a maior causa de resistência ao imatinibe. A identificação da mutação permite modificar o tratamento e por isso vários Métodos foram introduzidos no monitoramento da Leucemia Mielóide Crônica (LMC). **Objetivo e Métodos:** realizar uma revisão de literatura sobre as terapias para superar a resistência ao imatinibe. **Resultados:** Nilotinibe e dasatinibe são inibidores de tirosina quinase de 2ª geração. O nilotinibe é um inibidor da tirosina quinase *BCR-ABL* 30 vezes mais potente que o imatinibe *in vitro*. O dasatinibe é um inibidor da tirosina quinase *BCR-ABL* e da família da Src. A família Src modula vias de transdução de sinal intracelular que envolve o crescimento, diferenciação, migração e sobrevivência celular. A mutação T315I é insensível aos inibidores de 2ª geração. Vários medicamentos estão em desenvolvimento para superar a mutação T315I como bosutinibe, MK0457 (VX-680) e LBH-589. O bosutinibe, *in vitro* é mais ativo em algumas mutações que o imatinibe. É um inibidor duplo, tanto da tirosina quinase *BCR-ABL* quanto da família da Src, é inibidor de 3ª geração. O MK0457 (VX-680) é um inibidor da Aurora quinase, demonstra inibir a autofosforilação do *BCR-ABL* na presença da mutação T315I. A família Aurora é essencial

para a progressão da mitose. O LBH-589 é um inibidor da histona deacetilase, que induz a degradação do *BCR-ABL*. Pode ser usado associado a outros inibidores ou isoladamente na presença da mutação T315I. **Conclusões:** Conhecer o espectro de atuação dos novos medicamentos contra as mutações, principalmente da T315I, possibilita a seleção apropriada da terapia.

0360

Identificação de mutações no domínio tirosina quinase do gene *ABL*: uma revisão das metodologias de detecção

Bitencourt R¹, Cappelletti PA², Louro ID¹, Zalberg I²

¹ Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Vitória, ES

² Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: O tratamento da Leucemia Mielóide Crônica (LMC) foi radicalmente modificado com a introdução dos inibidores de tirosina quinase (ITK). Entretanto, a resistência aos ITK é um problema clínico crescente, que acomete 35% dos pacientes com LMC em fase crônica (FC). Mutações no domínio tirosina quinase (DTK) da proteína *BCR-ABL* é um dos mais importantes mecanismos de resistência à terapia com ITK. Cerca de cem substituições de diferentes aminoácidos já foram descritas. Estas mutações ocorrem em 30–60% dos pacientes resistentes. A identificação do fenômeno de resistência conferido por mutações individuais, de acordo com o ITK utilizado foram descritos a partir de ensaios de proliferação *in vitro*, o que permitiu o desenho de um algoritmo de utilização diferencial de ITK de 2ª geração. A detecção de mutações no DTK é fundamental para a re-orientação terapêutica do paciente com LMC. Metodologias foram implementadas para viabilizar a identificação de mutações, como o sequenciamento direto de Sanger (SS), Piro-sequenciamento, Cromatografia Líquida de Alta Performance Denaturante (DH-PLC), Curva de análise de alta resolução das temperaturas de Melting (HRM), Reação em Cadeia da Polimerase associado com o Polimorfismo de Fragmentos de DNA obtidos por enzimas de restrição (PCR-RFLP), Espectrometria de massa e Reação de cadeia da polimerase alelo-específico (ASO-PCR), todas elas variando na sensibilidade e especificidade (Baccarani M *et al.*, 2009). **Objetivo e Métodos:** Realizar uma revisão de literatura sobre as diferentes metodologias disponíveis para identificação de mutações no DTK do *ABL*. **Resultados:** O SS é a metodologia mais utilizada e apresenta sensibilidade de 15-25% para detectar mutação, assim, é inadequado para a detecção de mutação de baixo nível somático. A técnica é dependente da qualidade e integridade do RNAm. O piro-sequenciamento baseia-se no sequenciamento por síntese e fornece a informação do nucleotídeo de interesse em tempo real. A sensibilidade é de 5% e é altamente específico, entretanto, é necessário o conhecimento prévio da mutação sob investigação. O HRM é uma técnica relativamente rápida, muito sensível à qualidade da preparação do DNA e apresenta sensibilidade de 5%. O DHPLC baseia-se na retenção diferencial de espécies de DNA heteroduplex e homoduplex e apresenta sensibilidade de cerca de 1%. RFLP-PCR é usado como triagem rápida de mutações já descritas e a principal limitação sobre a sensibilidade deste método é a eficiência da digestão de restrição. A espectrometria de massa detecta baixos níveis de mutação, de forma rápida, com sensibilidade de 0,05-0,5%, mas apresenta alto custo. O ASO-PCR é de fácil execução e permite uma triagem rápida. Apresenta sensibilidade 0.01–0.001%, entretanto, é necessário o conhecimento prévio de mutações. Além disso, não requer preparações adicionais de produtos pós-PCR como a etapa de purificação para o SS. **Conclusão:** A escolha da metodologia adotada para identificação de mutação deve buscar um equilíbrio entre sensibilidade, especificidade, conveniência e custo, proporcionando Resultados seguros, confiáveis e rápidos.

Entretanto, a escolha feita pelos laboratórios na rotina é o SS por além identificar as mutações já descritas, permitir identificações de novas mutações.

0361

Pacientes portadores de leucemia mielóide crônica em uso de inibidores de tirosina quinase e sua relação com o controle do diabetes tipo-2

Hosken B¹, Bitencourt R², Louro ID², Zalberg I³

¹ Universidade Vila Velha – UVV, Vila Velha, ES

² Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Vitória, ES

³ Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: As proteínas tirosinas quinases atuam em processos celulares fundamentais como a proliferação, adesão e apoptose, através da interação com várias proteínas envolvidas na transdução dos sinais oncogênicos que são responsáveis pela ativação ou supressão da transcrição de genes. Essas interações são mediadas por proteínas adaptadoras como o fator de crescimento do receptor ligado a proteína 2 (Grb2), o fator de crescimento do receptor ligado a complexo de proteínas (Gab2), quinases da família SRC e quinase de adesão focal (FAK).⁽¹⁾ As principais vias implicadas na transdução de sinal incluem: a via da RAS, a via da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), via da quinase regulada por sinal extracelular (ERK), a via da fosfatidil-inositol-3-quinase (PI3K), via do transdutor de sinal e ativador de transcrição 5 (STAT5) e a via do fator nuclear kB (NFkB).⁽¹⁻³⁾ Os inibidores da tirosina quinases são a terapia de primeira linha para leucemia mielóide crônica (LMC), tumores do estroma gastrointestinal, e certas desordens mieloproliferativas com base na inibição do *BCRABL*, *c-kit*, e receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR)⁽⁴⁾. Alguns pacientes que são portadores de leucemia mielóide crônica e de diabetes do tipo 2 foram tratados com sucesso, não só para a leucemia, mas também para o diabetes, quando administrado inibidores de tirosina quinases. **Objetivo e Métodos:** Realizar uma revisão de literatura sobre o efeito dos inibidores de tirosina quinase em pacientes diabéticos. **Resultados:** Estudos demonstram que o imatinibe, um inibidor de tirosina quinase, tem mostrado retardar o desenvolvimento da aterosclerose, no contexto da diabetes por inibição da PDGFR sugerindo não só melhora do diabetes e glicemia, mas também efeitos benéficos sobre o desenvolvimento e progressão de complicações diabéticas macrovasculares.⁽⁵⁾ Empacientes com LMC e diabetes tipo 2, observou-se a normalização dos níveis de glicemia de jejum, redução da hemoglobina acetilada e controle do diabetes após o tratamento com imatinib.⁽⁴⁾ Em estudo que observou a concentração de glicose sérica em pacientes diabéticos e não diabético tratado com inibidores de tirosina observou-se quedas na concentração de glicose sérica.⁽⁶⁾ **Conclusão:** Por ser um inibidor que atua em inúmeras funções da célula, os inibidores de tirosina quinases podem auxiliar no controle e tratamento do diabetes tipo 2 em pacientes em tratamento para LMC, e também abre caminho para novas pesquisas no uso desses inibidores para o controle e tratamento de doenças metabólicas isoladamente.

0362

Valor prognóstico das alterações citogenéticas envolvendo o cromossomo 1 em pacientes com leucemia mielóide crônica

Camargo AC, Rodrigues EF, Castilho AP, Brito GD, Borges RM, Souza MO, Boquimpani CM, Fontes E, Carvalho SM, Bragança IC

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

A leucemia mielóide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal caracterizada citogeneticamente pela presença do cromossomo *Philadelphia* (Ph), o qual é resultante de uma translocação recíproca entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22, levando à formação de uma proteína quimérica (*BCR-ABL*) com atividade de tirosina-quinase desregulada. Alterações citogenéticas adicionais ao longo do tratamento são consideradas de grande relevância na evolução da doença para fase acelerada e crise blástica, estando relacionada geralmente com um prognóstico desfavorável. Estudos apontam que as alterações cromossômicas adicionais mais frequentes são: duplo cromossomo Ph e trissomia do cromossomo 8. Alterações envolvendo o cromossomo 1 em malignidades mielóides ocorrem com baixa frequência, sendo o seu valor prognóstico indeterminado. A importância clínica das alterações citogenéticas adicionais em pacientes com LMC ainda é controversa, sendo necessárias novas pesquisas. O presente estudo teve como objetivo avaliar o valor prognóstico das alterações citogenéticas adicionais envolvendo o cromossomo 1 em pacientes com LMC. No período de janeiro de 2000 a junho de 2012 foram analisados citogeneticamente 1256 pacientes provenientes do Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcante (HEMORIO), de ambos os sexos. A análise citogenética foi realizada a partir da cultura de células de medula óssea por bandeamento G. O padrão cariotípico seguiu os critérios adotados pelo Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana (ISCN, 2009). A citogenética molecular foi realizada pela metodologia de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), onde foram utilizadas duas sondas diferentes (*LSI BCR/ABL dual color, single fusion e WCP 1 spectrum Orange*). As alterações adicionais foram observadas em 202 (16%) dos pacientes analisados, sendo que apenas nove (4,5%) envolveram o cromossomo 1. Dentre os nove pacientes acompanhados citogeneticamente, dois pacientes apresentaram a variante t(1;9;22), três pacientes apresentaram as translocações cromossômicas: t(1;1), t(1;3) e t(1;X), dois pacientes apresentaram a duplicação 1q e dois pacientes apresentaram adicional (1p ou 1q). Observou-se que quatro (44%) destes pacientes evoluíram para fase acelerada ou crise blástica. Com relação ao tratamento inicial (inibidor da tirosina-quinase) apenas dois pacientes (22%) obtiveram resposta citogenética completa e em sete (67%) houve a necessidade da mudança do protocolo terapêutico (inibidores de tirosina-quinase de segunda geração). Dos sete pacientes que usaram inibidores de segunda geração, um (11%) obteve resposta citogenética completa, três (33%) ainda não obtiveram resposta, e três (33%) foram a óbito. Nossos Resultados sugerem que as alterações envolvendo o cromossomo 1 ocorrem com baixa frequência (0,7%) e podem estar associadas com um prognóstico desfavorável. No entanto, estudos com um maior número de pacientes são necessários para confirmar nossos achados.

0363

Avaliação do perfil clínico, epidemiológico e laboratorial dos pacientes com mielofibrose atendidos no serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais

Santana SA, Rabelo HK, Souza C, Magalhaes GH, Cardoso PR, Clementino NC

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

Introdução: A mielofibrose primária é uma neoplasia mieloproliferativa (NMP) classificada pela WHO 2008 em NMP *BCR ABL* negativa clássica. É um distúrbio clonal caracterizado pela proliferação de todas as séries hematopoiéticas e fibrose medular progressiva. A mielofibrose pode ser primária “de novo” (PMF) e ou precedida de outras NMP, trombocitemia essencial (pós-TE

MF) ou policitemia vera (pós-PV MF). Foram identificadas algumas mutações genéticas como possíveis fatores causais desta doença. Dentre elas, destaca-se a mutação do *JAK2 V617F* que é um critério maior de diagnóstico juntamente com a histologia de medula óssea. Recentemente a liberação de droga que tem como alvo a mutação do *JAK2* e sua recente utilização para o tratamento da mielofibrose estimulou o conhecimento da nossa casuística. **Objetivo:** conhecer as características clínicas, cito-morfológicas, citogenéticas e molecular desta população. **Métodos:** Análise transversal dos pacientes com mielofibrose em atendimento no ambulatório Borges da Costa do HC UFMG, no período de Fevereiro de 2011 a julho de 2012. **Resultados:** Foram analisados 42 prontuários. A mediana de idade foi de 60 anos (37 a 83 anos) sendo 52% do sexo feminino. Os principais sintomas foram dor óssea e emagrecimento. A esplenomegalia estava presente em 78% dos pacientes. A Hemoglobina foi menor que 10 g/dl em 26%, a leucometria maior que 25.000/mm³ em 21% e plaquetometria menor que 100.000 /mm³ em 11% dos pacientes. A presença de blastos em sangue periférico foi observada em 42% dos pacientes, a leucoeritroblastose em sangue periférico em 54,8% dos pacientes e valores elevados de LDH em 66,7%. A mutação do *JAK2* foi positiva em 64% dos pacientes. O cariótipo foi coletado em 71% dos pacientes e não foram obtidas metáfases para análise em 27%, em 40% o cariótipo foi normal e em 33% alguma alteração citogenética foi detectada, entre elas a trissomia do 8, a deleção do 20 e alterações do cromossomo 9. Oito pacientes foram classificados em baixo risco pelo IPSS, 18 como intermediário -1, 9 como risco intermediário-2 e 7 pacientes como IPSS de alto risco. **Conclusão:** a identificação desses fatores nos auxiliam no diagnóstico e na identificação prognóstica destes pacientes para orientar a melhor escolha do tratamento.

0364

Coexistência de leucemia linfocítica crônica e neoplasia mieloproliferativa: relato de dois casos

Corrêa TN, Athayde MS, Souza C, Romani GH, Muraó M, Araújo SS, Hugo CP, Araújo CA, Clementino NC

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

Introdução: A coexistência de leucemia linfocítica crônica (LLC) e neoplasia mieloproliferativa (NMP) tem sido esporadicamente descrita na literatura como relato de casos, e a maioria dos estudos descreveu eventos genéticos distintos nas populações de células linfóides e mielóides, sugerindo a origem independente das duas doenças. Os mecanismos patogênicos da associação entre LLC e NMP são desconhecidos. O padrão de início das duas desordens é extremamente heterogêneo e parece depender do tipo de NMP concomitante. **Objetivo:** relatar a associação rara entre LLC e NMP em dois pacientes acompanhados pelo serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas - UFMG. **Métodos:** Caso 1: RIC, 87 anos, sexo feminino, encaminhada por leucocitose e trombocitose descobertos em exames de rotina, assintomática. Exames (18/06/09): Hb 13,3 g/dL Htc 40,4 % Pla_q 975.000/mm³ LG 30,8 x10³/μL S40/L49/M5/E6. Exame físico sem alterações. Portadora de hipertensão arterial sistêmica, em uso de nifedipina e hidroclorotiazida. Novos exames em 02/09/09: Hb 14,4 g/dL Htc 45,7 % Pla_q 1.082.000/mm³ LG 39,2 X10³/μL meta1/bast2/S38/E5/B1/M3/L50 com numerosas manchas de Grumprecht. Anti-cardiolipina negativo e funções hepática e renal sem alterações. Iniciado então AAS 200mg. Em 10/09/09: *JAK2* positivo. Em 17/09/09 biópsia de medula óssea confirmou o diagnóstico de trombocitemia essencial (TE). Iniciado Hydrea 1500mg. Houve redução da contagem plaquetária, mas permaneceu com linfocitose em exames seriados, sendo levantada a hipótese de associação com doença linfoproliferativa. Solicitada imunofenotipagem, que resultou compatível

com LLC (score 5 - Matutes *et al.* Leukemia,8,1994). Optado por manter Hydrea pela plaquetose e sugerido acompanhamento para a LLC, uma vez que a paciente não fechava critérios para iniciar tratamento. Caso 2: DDM, 79 anos, sexo feminino, assintomática, encaminhada com suspeita de NMP. Exames (03/01/12): Hb 18,8 g/dL Htc 57,8 % LG 17,73 X10³µ/L S9570/L6030/M1600 Pla 2.099.000/mm³ LDH 752 U/L. Funções hepática e renal normais. Exame físico sem alterações. Portadora de hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2, doença de Chagas, amaurose bilateral, passado de isquemia intestinal, asma. Familiares relatam exames desde 2009 alterados (18/12/09): LG 22,60 X10³µ/L N8814/L12204. Biópsia de medula óssea (23/12/11): medula óssea hiperclular, com distúrbios de maturação e topografia e sete nódulos linfoides volumosos. Os nódulos linfoides descritos levantam a possibilidade de doença linfoproliferativa (linfoma indolente). Entretanto as alterações do parênquima medular também não afastam doença mieloproliferativa crônica. *BCR-ABL* negativo. *JAK2* negativo. Cariótipo: não houve crescimento de metáfases para a análise. Imunofenotipagem (12/01/12) compatível com LLC (score 4 - Matutes *et al.* Leukemia,8,1994). Iniciado AAS 100mg/dia. Feito sangria de 300mL. Exames pós-sangria: Hb 17,6 g/dL Htc 54,2 % LG 15,86 x10³µ/L N9400/L5150/M760 Pla 1.897.000/mm³. Mantida plaquetose e eritrocitose, sendo então iniciada Hydrea. Diagnóstico de LLC e TE. **Conclusão:** As duas pacientes estão em acompanhamento com bom controle da neoplasia mieloproliferativa, não evidenciando até o momento progressão da LLC. Segundo um estudo recente de revisão da literatura, em que foram descritos 46 casos desta associação, o tratamento da NMP não interfere no prognóstico da LLC.

0365

Análise da frequência do haplótipo do gene *JAK2*, denominado 46/1 ou GGCCM pacientes portadores de neoplasias mieloproliferativas crônicas

Macedo LC, Santos BC, Silva SP, Sell AM, Visentainer JE

Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá, PR

As neoplasias mieloproliferativas crônicas (NMPc) são um grupo de doenças sanguíneas caracterizadas por hematopoese clonal, produção excessiva e crônica de células sanguíneas diferenciadas e risco aumentado de trombose e transformação leucêmica secundária. Dentre as NMPc negativas para a translocação *BCR-ABL*, são mais frequentes: policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE) e mielofibrose idiopática (MF). A maioria dos pacientes com PV e cerca da metade dos pacientes com TE e MF apresentam uma mutação adquirida específica no gene *JAK2*. É uma mutação pontual na posição 617 do gene levando a uma substituição do aminoácido valina por fenilalanina (V617F). Mais recentemente, observou-se que a mutação adquirida *JAK2 V617F* poderia estar relacionada a um haplótipo específico, herdado geneticamente. Essa descoberta foi realizada observando-se que a mutação não era completamente aleatória, mas ocorria preferencialmente em um haplótipo *JAK2* denominado 46/1, ou "GGCC", que está associado ao polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP), o rs10974944. O objetivo foi avaliar a frequência do alelo G do gene *JAK2* em pacientes com NMPc e comparar com uma população saudável. Foram analisados 49 amostras de pacientes com NMPc que apresentavam a mutação V617F e 126 amostras de sangue de indivíduos saudáveis, já previamente obtidas segundo as normas preconizadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (UEM). As amostras foram coletadas e realizado a extração de DNA através do *Kit QIAamp (Qiagen®*, Chatsworth, CA), à concentração de DNA foi avaliado pelo espectrofotômetro Nanodrop (Thermo Fisher Scientific®, Wilmington, USA). A técnica de RFLP-PCR foi realizada para avaliação

do haplótipo 46/1 e verificada a presença do alelo G. Quando comparamos os Resultados da genotipagem do SNP rs10974944 entre os pacientes com NMPc e os controles encontramos, um valor de P significativo para o Genótipo CC (P=0,0001; OR= 0,28; 95% IC=0,15-0,58) e o Genótipo GG (P=0,0046; OR= 2,94; 95% IC=1,43-6,94), já o genótipo CG o valor de P não foi significativo (P=0,0575). Quando foi analisada a frequência alélica entre os pacientes e controles encontramos associações significativas entre o alelo C (P=0,0001; OR= 0,39; 95% IC=0,26-0,58) e entre o alelo G (P=0,0001; OR= 2,55; 95% IC=1,71-3,80). Os Resultados sugerem que as frequências do genótipo GG e do alelo G foram significativamente maiores em pacientes com neoplasias mieloproliferativas crônicas quando comparados aos controles, proporcionando assim uma associação com a susceptibilidade à doença. Em concordância com os dados previamente descritos na literatura, a presença do haplótipo 46/1 do gene *JAK2*, representada pela presença do alelo G, mostrou-se como um importante fator predisponente ao desenvolvimento de neoplasias mieloproliferativas crônicas em nossa população. O estudo de possíveis fatores genéticos, associados ao desenvolvimento das neoplasias mieloproliferativas crônicas, devem ser analisados, de modo a ajudar na identificação de fatores de risco hereditários e possibilitar o desenvolvimento de novos testes diagnósticos voltados para a identificação e caracterização das diferentes causas de policitemias e do risco de transformação neoplásica.

0366

Accelerated phase of chronic myeloid leukemia: the impact of the different criteria on treatment response and survival

Furtado VF, Fagundes TS, Santos GR, Sinamura LA, Setubal DC, Carvalho DS, Maluf EM, Malvezzi M, Pasquini R, Funke VA

Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

Introduction: Chronic Myeloid Leukemia (CML) is a clonal myeloproliferative disease which progresses from an indolent phase to a more aggressive disorder, the accelerated phase (CML-AP). Unless effective therapy is instituted, it transforms to a terminal stage or blastic phase (CML-BP). Even though CML-AP is well recognized, the criteria that define this phase vary in the literature. Thus, different definitions of AP have been described and the heterogeneity among patient outcomes and response is marked. IBMTR criteria have been used in bone marrow transplantation studies. In 2001, the World Health Organization proposed a new classification in order to refine criteria for AP. In 2006, MD Anderson (MDACC), also reclassified patients on therapy with imatinib. Some published criteria are objective and are included in most classifications, while others are subjective and are included in only few classifications (leukocytosis unresponsive to therapy and persistent splenomegaly). **Objective:** This study was designed to analyze the several existing criteria and correlate them with treatment response and prognosis in a CML-AP Brazilian population of a referral center. **Methods:** This is a retrospective study from January 2000 to November 2011 in which data from the chart of 143 patients with CML-AP (according to any of overmentioned criteria) treated with imatinib, were selected from BMT Center database of Hospital de Clínicas de Universidade Federal do Paraná, Brazil. Survival data was analysed by Kaplan-Meier method. P level of significance was defined as 0,05. Univariate and Multivariate analysis were performed using STATA program version 8.0. Primary endpoints were major cytogenetic response (MCR), survival and death. We evaluated as risk factors all variables included in previous reported classification of accelerated phase CML (blasts >10% in peripheral blood, basophils >10% in peripheral blood, spleen >10 cm from left costal margin, hemoglobin <10 g/dl, platelets >1.000.000 and <100.000, MCR) as well as the

development of hematologic toxicity after imatinib. **Results:** 43,4% of the patients were female and 56,6% were male. Median age was 51 years. In prospective multivariate analysis, blasts (OR= 7,8 p=0,003 IC=1,97-30,77), anemia (OR=5,1 p=0,001 IC=2,04-13,09) and previous use of interferon (OR= 2,2 p=0,048 IC=1,02-4,85) were independent risk factors for achieving MCR. Time from diagnosis to therapy (HZ=1,00 p=0,03 IC= 1,000038-1,000765) hematologic toxicity (HZ=2,70, p= 0,002 IC= 1,46-5,00), blasts(HZ=2,53 p=0,02 IC=1,16-5,54) leukocytosis (HZ=3,97 p=0,006 IC= 1,48-10,70) and anemia (HZ= 2,84 p=0,001 IC= 1,50-5,40) were significant risk factors for shorter survival. Blasts (OR=6,05 p=0,008 IC= 1,59-23,16), leukocytosis (OR=8,33 p= 0,008 1,74-39,86), hematologic toxicity (OR= 4,51 p=0,003 IC=1,63-10,51), age > 60 years (OR=2,94 p= 0,026 1,13-7,62) and time from diagnosis to therapy (OR= 1,000714 p=0,003 IC= 1,000245-1,001183) were significant risk factors to the outcome death. **Conclusion:** These data indicate that patients with the above risk factors have a worse prognosis than some other also classified as AP patients. This information can guide therapy to be instituted. Prospective multicenter studies are necessary to achieve a classification that can be used during the era of TK inhibitors.

0367

Crise blástica bifenotípica em leucemia mielóide crônica: relato de casos e revisão da literatura

Scherer D, Azambuja AP, Setubal DC, Medeiros LA, Sola CB, Beltrame M, Farah N, Malvezzi M, Pasquini R, Funke VA

Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

Introdução: A Crise blástica (CB) da Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é caracterizada pela rápida expansão de uma população de blastos mielóides, linfóides ou bifenotípicos, e pela sobrevivência de apenas alguns meses para a maioria dos pacientes. A transformação blástica da LMC é mielóide em 70% dos casos, 25% linfóide e raramente bifenotípica. Poucos estudos na literatura descrevem o perfil da CB Bifenotípica (CBB) na LMC. **Objetivos:** Relato de cinco casos de CBB expondo as características clínicas, epidemiológicas, de evolução dos pacientes, e revisão da literatura sobre o tema. **Métodos:** Estudo retrospectivo realizado através da revisão de cinco prontuários de pacientes com diagnóstico de LMC confirmado por citogenética, e evolução para crise blástica bifenotípica confirmada por imunofenotipagem, atendidos no Hospital de Clínicas da UFPR. **Resultados:** Dos cinco pacientes, três eram mulheres; a mediana da idade no diagnóstico da LMC foi de 32 anos (13-49) e da CB foi de 32 anos (13-49). A CBB ocorreu em média 16,6 meses após o diagnóstico. Um paciente apresentou cariótipo complexo na citogenética, os demais tinham translocação (9;22) isolada. Um paciente submetido à TMO aparentado dois anos após o diagnóstico de LMC, desenvolveu CB bifenotípica dois anos após ter apresentado recidiva da doença. Os tratamentos para a fase blástica utilizados foram: quimioterapia com citarabina e antraciclina (esquema 7+3) em 2 pacientes, inibidores da tirosino-quinase (Imatinibe, Dasatinibe e Nilotinibe) em todos os pacientes, hidroxiuréia m 2 pacientes e ciclofosfamida em 1 paciente. Um paciente foi submetido a transplante de células tronco de sangue periférico, porém com recaída após 2 anos do transplante, previamente à CBB. Dois pacientes evoluíram com infiltração do SNC, sendo submetidos a tratamento com Metotrexato/Ara-C/Dexametasona Intratecal (Esquema MADIT). Toxicidade hematológica e neutropenia febril foram as complicações mais frequentes apresentadas. Nenhum paciente apresentou remissão da CB, e foram a óbito em média 3,8 meses após o diagnóstico da CBB. **Conclusão:** Apesar de ocorrer mais frequentemente em pacientes com LMC quando comparado a LMA de novo, a CBB ainda é um evento raro, tendo ocorrido em 17,8% dos nossos pacientes. A evolução para CBB parece ser

mais rápida quando comparada aos demais pacientes com CB mielóide, a exemplo do que é relatado com a CB linfóide. Invasão do SNC é comum nestes casos. O prognóstico é reservado, com alto índice de refratariedade aos tratamentos atuais, com sobrevida média de 3,8 meses, havendo claramente a necessidade de novas alternativas terapêuticas.

0368

Evolução clínica da crise blástica da Leucemia Mielóide Crônica: relato de 25 casos em uma única instituição

Scherer D, Funke VA, Azambuja AP, Setubal DC, Medeiros LA, Sola CB, Mion AL, Farah N, Pasquini R, Malvezzi M

Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

Introdução: A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença da célula precursora hematopoética, caracterizada pela formação do gene híbrido *BCR-ABL*, e ativação constitutiva de sua ação de tirosino-quinase, levando a expansão de células mielóides. A doença tem um curso tipicamente trifásico: fase crônica (FC), fase acelerada e crise blástica, esta última sendo a fase terminal da doença. Na crise blástica (CB), há mais de 20% de blastos na medula e a caracterização desta célula é um ponto importante na definição terapêutica. Esta fase é rapidamente fatal, com uma média de sobrevida de 3 a 6 meses. **Objetivos:** Descrição de uma série de 25 casos de crise blástica (CB) da LMC, quanto às suas características clínicas e evolução. **Métodos:** Estudo retrospectivo realizado através da revisão de prontuários de pacientes com diagnóstico de LMC confirmado por citogenética, e evolução para crise blástica confirmada por imunofenotipagem, atendidos no Hospital de Clínicas da UFPR de 2003 a 2012. **Resultados:** Dos 25 pacientes, 13 eram mulheres e 12 homens. A mediana de idade na CB foi de 41 anos (9-78). A imunofenotipagem revelou cinco casos de CB bifenotípica (20%), 7 casos de CB linfóide (CBL) (28%) e 13 casos de CB mielóide (CBM)(52%). Três pacientes apresentaram cariótipo complexo à citogenética e 5 pacientes evoluíram com infiltração de SNC, sendo 2 deles pacientes com CBL, 2 com CBM e 1 deles com CBB. Os tratamentos usados para CB foram: inibidores da tirosino-quinase (ITK) - imatinibe, dasatinibe, nilotinibe ou bosutinibe (todos os pacientes), citarabina e daunorrubicina (6 pacientes), vincristina (2 pacientes), corticóide (3) e ciclofosfamida (1 paciente). Quatro pacientes foram submetidos a transplante de células tronco hematopoéticas, dois pacientes receberam medula óssea, um recebeu células do cordão umbilical e um recebeu células tronco periféricas. Três destes permanecem vivos com um tempo de seguimento mediano 48 meses (10-48). Os pacientes com infiltração de SNC receberam quimioterapia intratecal (MADIT). Todos os casos sem resposta ao tratamento receberam tratamento suportivo. As complicações pós-tratamento mais frequentes foram toxicidade hematológica, neutropenia febril, síndrome da lise tumoral, sepse e insuficiência renal aguda. Dezoito pacientes evoluíram para óbito devido à CB em média 8,5 meses após seu início. As causas de óbito mais frequentes foram: choque séptico/sepse (6 pacientes), insuficiência respiratória/SARA (5 pacientes) e hemorragia intracerebral (4 pacientes). Sete pacientes permanecem em acompanhamento com remissão molecular completa, sendo dois com CBL (8%) e cinco com CBM (20%), com um tempo de seguimento mediano de 34 meses (10-74). **Conclusão:** encontramos uma maior incidência de CBB e CBL, porém mais da metade dos pacientes apresentavam CBM, de acordo com a literatura. Dos sete pacientes que responderam, dois eram CBL (28,5% dos casos de CBL), e 5 CBM (38,4%), o que pode apontar um melhor prognóstico para a última. Apesar do tratamento com ITK, 72% dos pacientes foram à óbito. Dos quatro pacientes que realizaram TMO, três permanecem vivos, e em remissão, de-

mostrando a eficácia deste procedimento, que deve ser usado em combinação com os recursos atuais para tratamento da fase avançada da LMC.

0369

Falência hepática aguda após uso de mesilato de imatinibe como tratamento de recidiva após transplante alogênico: relato de caso

Lobato A, Funke VA, Setubal DC, Medeiros LA, Sola CB, Oliveira MM, Nabhan S, Bitencourt MA, Pasquini R, Malvezzi M

Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

O Mesilato de imatinibe é considerado atualmente a droga de escolha para o tratamento de leucemia mielóide crônica (LMC). Após Transplante de medula óssea habitualmente se usa infusão de linfócitos do doador (ILD) para o tratamento da recidiva. No entanto varios estudos tem demonstrado a segurança e eficácia do imatinibe tambem neste cenário. Este medicamento costuma ser bem tolerado, no entanto podem ocorrer eventos adversos graves, como o risco de hepatotoxicidade que pode ser grave em até 5% dos pacientes. Descreveremos o caso de uma paciente feminina de 23 anos com insuficiência hepática fulminante devido ao uso do imatinibe em decorrência de LMC em fase crônica (LMC- FC) após recidiva de transplante de medula óssea (TMO) alogênico aparentado. A paciente obteve o diagnóstico de LMC - FC em novembro de 2004, e ficou em uso de hidroxiuréia até ser encaminhada, então, ao Serviço de Transplante de Medula Óssea (STMO) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC - UFPR), onde foi submetida, em julho de 2005, ao transplante de medula óssea (TMO) alogênico aparentado compatível, obtendo a pega medular no dia +15. A pesquisa de quimerismo do dia +100 mostrava 95% de células do doador e a razão *BCR-ABL/ABL* era de 0,006%. Posteriormente, nova pesquisa dos transcritos *BCR-ABL* em janeiro de 2008 apresentava nível indetectável. Houve recaída molecular da LMC em julho de 2009 (razão *BCR-ABL/ABL* de 0,143%, positividade persistente). De novembro de 2009 até março de 2010 tentada infusão de linfócitos do doador (ILD) para reversão do quadro sem sucesso. Evoluiu para recaída hematológica em abril de 2010 e optado por iniciar imatinibe na dose de 400 mg ao dia a partir de junho de 2010. Em março de 2011 apresentava-se com resposta hematológica e citogenética completas e molecular maior. Não apresentou qualquer sinal de doença do enxerto contra hospedeiro em todo este período. Em consulta de maio de 2011 referia quadro de início súbito de icterícia, colúria e acolia fecal. A dosagem das enzimas hepáticas revelaram-se elevadas (AST 1.816 UI/L e ALT 2.179 UI/L) além de elevação das bilirrubinas e do prolongamento do tempo de sangramento. Pesquisa de sorologias para hepatites virais A, B e C negativas bem como auto anticorpos hepáticos. Feito diagnóstico de hepatite aguda fulminante secundário ao uso de imatinibe e tentado pulsoterapia com corticóide e suspensão da medicação sem sucesso, sendo, então, indicado transplante hepático o qual ocorreu 7 dias após a internação. A paciente apresentou boa evolução do enxerto hepático recebendo alta após o décimo quinto dia após a cirurgia. Em consulta com hematologia em julho de 2011 apresentava razão *BCR-ABL/ABL* 0,003%, e este exame se manteve positivo. Optado por iniciar em setembro de 2011 dasatinibe 100mg ao dia. Atualmente a paciente apresenta-se em resposta molecular completa em uso de dasatinibe 100mg ao dia, além de se encontrar estável em relação ao enxerto hepático.

0370

Leucemia neutrofílica crônica em portador de mieloma múltiplo assintomático: relato de caso

Oliveira EM, Cardoso DK, Carvalho PD, Martinez GA

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, SP

A Leucemia Neutrofílica Crônica é uma mieloproliferação rara que predomina em indivíduos idosos, sendo descritos até o momento 150 casos na literatura. Estudos mostram uma associação entre esta entidade e Mieloma Múltiplo. Uma das teorias existentes se relaciona à produção de citocinas pelos plasmócitos, resultando em uma superprodução de fatores de crescimento estimuladores de colônias de granulócitos. Relatamos o caso de uma paciente de 71 anos de idade que acompanha desde o ano de 2000 no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em função de Mieloma Múltiplo assintomático IgG Lambda, que iniciou em abril de 2010 uma neutrofilia persistente em torno de 20.000/mm³ com discreta anemia em torno de 10g/dl e contagem de plaquetas normais. Na investigação foi descartado infecções agudas ou crônicas, as sorologias para Hepatite B e HIV foram negativas e a paciente apresentava Hepatite C curada. A dosagem da Vitamina B12 foi de 11.114pg/ml. Ultrassonografia de abdômen revelou esplenomegalia. Realizado mielograma que evidenciou uma medula óssea intensamente hiper celular, às custas de série granulocítica com elementos hipergranulares e maduros e 13,6% de plasmócitos. A pesquisa da mutação Jak V617F assim como a PCR para *BCR-ABL* foram negativas. Diante da neutrofilia persistente e sem outros fatores causais, iniciado tratamento com Melfalano e Dexametasona, evoluindo após o primeiro ciclo com melhora importante da neutrofilia. Não foi possível comprovar a proliferação clonal neutrofílica, entretanto dada a melhora após o início do tratamento do Mieloma e de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde, foi aventada a hipótese de tratar-se de Leucemia Neutrofílica Crônica.

0371

Oxidative stress and wnt signalling activation in chronic myeloid leukemia resistance: label-free MS^E proteomic analyses reveal the dark side of imatinib mesylate

Pizzatti L¹, Panis C², Lemos G¹, Diniz C¹, Cecchini R², Abdelhay E¹

¹ Divisão de Laboratórios do CEMO, Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Laboratório de Fisiopatologia de Radicais Livres, Universidade Estadual de Londrina - UEL, Londrina, PR

Chronic myeloid leukemia (CML) is a pluripotent hematopoietic disorder that is currently considered incurable. The tyrosine kinase product of the Philadelphia chromosome, P210 *BCR-ABL*, provided a pathogenetic explanation for the initiation of the CML chronic phase and is the molecular therapeutic target for the disease. Imatinib mesylate (IM), an orally available *BCR-ABL* kinase inhibitor, can induce haematologic and cytogenetic remission of CML. However, imatinib resistance occurs frequently, resulting in relapse. New treatment strategies are focusing on resistant CML stem cells and the bone marrow stroma. The identification of novel pathways and mechanisms in the bone marrow microenvironment could significantly contribute to the development of such strategies. In this work, we used a high-resolution label-free MS^E proteomic approach to identify differential protein expression in the CML bone marrow plasma of responsive and resistant patients. These data shows that oxidative lipid metabolism and regulation of the switch

from canonical to non-canonical WNT signalling may contribute to CML resistance in the bone marrow compartment. Moreover our result indicates that oxidative stress detected in imatinib-resistant patients could be due to imatinib-induced lipid peroxidation, independently of the oxidative response associated with CML. Acknowledgments: Ministry of Health, FINEP, PPSUS-FAPERJ, CNPq, INCT

0372

Coexistência da translocação *BCR/ABL* e da mutação *JAK2* em um paciente com diagnóstico de leucemia mielóide crônica

Martins FA, Cazeli AB, Lima AR, Samico RC, Oliveira JS, Cavalheiro RC, Conchon MR

Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP

Introdução: As neoplasias mieloproliferativas (NMP) são caracterizadas por um distúrbio clonal nas células tronco hematopoéticas que conduzem à proliferação da série granulocítica, eritróide ou megacariocítica, isoladamente ou em conjunto. A fusão do gene *BCR/ABL* que ocorre como um resultado da t(9;22)(q34;q11.2) é de particular relevância na classificação da leucemia mielóide crônica (LMC). A mutação *JAK2 V617F(JAK2)*, entretanto, é encontrada em quase todos os pacientes com policitemia vera (PV) e em uma proporção de pacientes com mielofibrose primária (MFP) e trombocitemia essencial (TE). A ocorrência simultânea de mutação *JAK2* e translocação *BCR/ABL* é incomum embora vem aumentando a incidência de relatos desta associação. **Relato de Caso:** Paciente do sexo masculino, 65 anos, com múltiplas comorbidades, apresentava leucocitose e trombocitose nos exames laboratoriais desde agosto de 2010. Iniciou acompanhamento com a hematologia em fevereiro de 2011 assintomático, porém com esplenomegalia a 4 cm do rebordo costal e com os seguintes exames laboratoriais – hemograma (05/01/2011): hemoglobina: 12,6g/dL; hematócrito: 39%; leucócitos: 36100/mm³, com diferencial de 75% segmentados; 10% eosinófilos; 1,6% basófilos; 7,2% linfócitos; 5,3% monócitos e plaquetas: 823.000/mm³. Biópsia de medula óssea evidenciava celularidade em torno de 90% com relação G: E >7: 1; hiperplasia da série granulocítica e megacariocítica, sem alterações evidentes em estroma e ausência de reticulogênese. Foi realizado cariótipo, o qual revelou 100% de células com cromossomo *Philadelphia* (Ph+) e PCR para *BCR/ABL*, que foi positivo para P210. Apresentava também mutação heterozigótica para *JAK2*. Iniciou imatinibe 400mg/dia em 07/06/2011. Em 28/06/2011 já não havia esplenomegalia ao exame físico. Após 8 meses de tratamento, cariótipo de 10/02/2012 com presença de cromossomo Ph+ em 90% células analisadas. Devido a resposta subótima, paciente iniciou nilotinibe em 24/04/2012. A medicação foi suspensa por provável evento adverso, angina instável, em 27/04/2012. Por tal motivo iniciou outro fármaco de segunda geração, dasatinibe 100mg/dia em 15/05/2012 e permanece assintomático em acompanhamento ambulatorial. **Discussão e Conclusão:** Um número crescente de casos com coexistência da mutação *JAK2* em pacientes com LMC Ph+ vem sendo descritos. Em alguns casos, o *JAK2* mutado aparece depois do início da terapia com inibidor de tirosina quinase (ITK) para LMC, mas na análise retrospectiva do material inicial, o *JAK2* mutado estava presente no diagnóstico da LMC. Em outros casos reportados, o diagnóstico de LMC aparece em pacientes com diagnóstico bem estabelecido de PV, MFP ou TE com *JAK2* mutado. No nosso caso descrito, a mutação do *JAK2* e o transcrito *BCR/ABL* foram detectados ao mesmo tempo. A dinâmica interação entre *JAK2* e *BCR/ABL* é pouco conhecida, no entanto nota-se que em alguns casos o tratamento com ITK suprime os clones *BCR/ABL*, fazendo com que haja uma dominância clonal do *JAK2*, sugerindo que são dois clones indepen-

des. Em outros casos, o tratamento com ITK suprime as duas mutações favorecendo a possibilidade de haver um único clone que possua ambas mutações. No entanto maiores estudos e de maior tempo de seguimento são necessários para melhor definir a relação entre translocação *BCR/ABL* e mutação *JAK2*, assim como a evolução clínica destes pacientes.

0373

Mielofibrose: relato um caso

Araujo LT, Martins AV, Campos FC, Zouain DS, Oliveira AG, Oliveira JM, Oliveira HM

Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG

Introdução: Mielofibrose (MF) é uma desordem neoplásica da medula óssea classificada junto com a Policitemia Vera e Trombocitemia Essencial como desordem mieloproliferativa *BCR/ABL* negativa, sendo a mais rara entre estas. Caracteriza por anemia progressiva, hepatoesplenomegalia, caquexia e hematopoiese extramedular. A média de sobrevida é variável, podendo ser de menos de 3 anos a até mais de 10 anos, dependendo da presença ou não de fatores de risco como: anemia, trombocitopenia, leucopenia, leucocitose, blastos circulantes, sintomas constitucionais e anormalidades citogenéticas de baixo risco. A estratégia terapêutica varia dependendo da estratificação de risco (baixo, intermediário ou alto), incluindo drogas imunomoduladoras como a talidomida e a lenalidomida, e em alguns casos considera-se o transplante de células tronco alogênicas. **Relato de Caso:** P.X.N., masculino, branco, 62 anos, casado, residente em Belo Horizonte. Admitido com astenia e massa em hipocôndrio esquerdo. História pregressa de arritmia cardíaca em uso regular de amiodarona, diagnosticado há 5 anos. USG abdominal evidenciou esplenomegalia 20 x 15 cm. Hemograma: hg: 6,7 g%, ht: 21,8%, vcm: 29 fl, Lg: 50.800 p/mm³, n: 11.684 /mm³, mielocito: 1540 p/mm³, metamielocito: 2032 p/mm³, linfócito: 11.176 p/mm³, monócito: 7620 p/mm³, plaquetas: 577.000 p/mm³. Miograma: Hemodiluído. Cariótipo de aspirado medular: 46 XY, Del (12)(P11.2P12) (20) elulas analisadas: 20. Biópsia de crista ilíaca: Pan-hiperplasia, associada a moderada fibrose. Vários megacariócitos dismórficos. Achados mais sugestivos de MF primária. Iniciou uso de hidroxiuréia 500 mg/dia devido a hiperleucocitose. Houve controle da plaquetose porém sem controle adequado da leucocitose. Optado por aumento da dose do hidroxiuréia para 1000 mg nas 2^o e 5^o feiras com piora da anemia sintomática, sem regressão da hepatoesplenomegalia. Mudou-se o tratamento para talidomida 100mg/dia, porém houve progressão rápida dos níveis leucocitários. Associou-se 500mg/dia de hidroxiuréia a Talidomida, quando então obteve-se boa resposta clínica e hematológica: normalização do leucograma e redução da esplenomegalia. **Conclusão:** Mielofibrose, doença rara entre desordem mieloproliferativa *BCR/ABL* negativa, apresenta sobrevida variável com desenvolvimento de hematopoiese extramedular. O presente relato mostra a mielofibrose com controle adequado após associação não usual, nesta doença, de drogas como a hidroxiuréia e talidomida.

0374

Análise do perfil e resposta ao tratamento com mesilato de imatinibe dos pacientes com diagnóstico de leucemia mielóide crônica atendidos no Hospital de Câncer de Barretos

Silva RC, Souza GM, Goncalves IZ, Pereira VP, Esteves MF, Garcia MC

Hospital de Câncer de Barretos – HCB, Barretos, SP

Introdução: O presente estudo foi realizado com o intuito de conhecer o perfil epidemiológico dos pacientes com diagnóstico de Leuce-

mia Mielóide Crônica (LMC) em tratamento em hospital terciário de referência e avaliar a resposta ao tratamento com mesilato de imatinibe. **Métodos:** Foi realizado estudo retrospectivo dos casos de LMC de Janeiro de 2003 à Junho 2012, através da análise dos prontuários de 60 pacientes com diagnóstico de LMC. Foram anotadas as características clínicas ao diagnóstico, assim como o tempo para aquisição de resposta hematológica, citogenética e molecular. **Resultados:** Dos 83 pacientes com LMC em tratamento no serviço, 60 foram avaliáveis e entraram para a análise. Destes 60 pacientes, 38 (63,3%) são do sexo masculino e 22 (36,7%) do sexo feminino. A mediana de idade foi de 48 anos, variando de 21 aos 74 anos. Ao diagnóstico, 56 (93,3%) pacientes encontravam-se na fase crônica, 3 (5%) e 1 (1,7%) pacientes foram diagnosticados em fase acelerada e crise blástica respectivamente. Em relação aos sintomas 18 pacientes (30%) não apresentavam qualquer sintoma ao diagnóstico e 42 pacientes (70%) apresentavam sintomas, dos quais os principais foram: Astenia: 25 (41,7%), seguido de dor: 23 (38,3%) e perda de peso: 17 (28,3%). Em relação à resposta ao tratamento, dos 60 pacientes, um tem diagnóstico recente, não sendo ainda possível avaliação da resposta e 52 (86,7%) obtiveram resposta hematológica completa (RHC) em 3 meses, 6 (10%) em 6 meses, 1 (1,7%) em 12 meses. Dos 48 pacientes analisáveis para a variável de resposta citogenética completa (RCC), em 24 (40%) dos pacientes obtiveram RCC em até 6 meses do início do imatinibe e em 17 (28,3%) obtiveram resposta em até 12 meses, e 6 (10%) alcançaram RCC em até 18 meses. Em nosso serviço iniciou-se a pesquisa de Resposta Molecular Maior (RMM) no ano de 2008, sendo possível a análise de 29 pacientes (48,3%) que obtiveram resposta em até 18 meses. Não houve resposta em 6 (10%) casos, sendo necessário o tratamento com inibidores de tirosinoquinase de segunda linha. Foram encaminhados para o transplante 4 pacientes que evoluíram para fase acelerada ou crise blástica. **Conclusão:** Em relação ao perfil epidemiológico, nossos dados estão de acordo com o observado na literatura, doença com pico de incidência entre a 5ª e 6ª décadas e maior incidência em indivíduos do sexo masculino. Também os dados de apresentação da doença e fase do diagnóstico são consistentes com os dados da literatura. O tratamento com mesilato de imatinibe é eficaz na obtenção de resposta hematológica, citogenética e molecular. Nossos Resultados estão de acordo com os relatados na literatura.

0375

A importância de uma correlação entre a resposta citogenética e molecular para obtenção de biomarcadores preditivos da resposta aos ITK em pacientes com Leucemia Mielóide Crônica

Bonecker S¹, Scholl V¹, Cappelletti PA¹, Rocha M², Moellmann A³, Dobbin J³, Solza C⁴, Zalberg I¹

¹ Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea - CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Laboratório de Citogenética, CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Serviço de Hematologia, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

⁴ Serviço de Hematologia, Hospital Universitário Pedro Ernesto - HUPE, Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ, Rio de Janeiro, RJ

Introdução e Objetivos: O tempo para o alcance da resposta citogenética (RCg) e molecular (RM) após o início do Inibidor de tirosina quinase (ITK), em função da % cels cromossomo Ph+ e dos níveis de transcritos *BCR-ABL*, respectivamente, são recomendados para discriminação precoce entre um respondedor ótimo (RO) e falha terapêutica. RO é utilizado para pacientes com Leucemia Mielóide Crônica (FC-LMC), tratados com ITK primeira ou 2ª linha que atingem uma RCg completa (RCgC) em até 12 meses e uma RM maior (RMM) em

até 18 meses. Molecularmente, a discriminação entre um RO e falha é baseada nos níveis de *BCR-ABL* obtidos por qRT-PCR em amostras seriadas de SP, ao longo do tratamento com ITK. RMM é a redução de 3logs em relação à média ponderada dos níveis *BCR-ABL* de pacientes com LMC ao diagnóstico convertida a um valor teórico de 100%, conhecida como: Escala Internacional (IS); níveis *BCR-ABL* equivalentes a RMM são de 0,1%. A busca de uma correlação entre RCg e RM é importante porque: >pacientes atingem RCgC já aos 9 meses; RM é obtida em amostras de SP; maior sensibilidade dos Métodos moleculares permite a obtenção de parâmetros preditivos mais precoces. Este estudo objetivou verificar se os níveis de RCg podem ser correlacionados aos de RM, com isto foram comparados: Ausência RCg (NoRCg) Ph+ >35% vs decaimento *BCR-ABL* <1 log (= $BCR-ABL/ABL^{IS} >10\%$); RCg Parcial (RCgP) Ph+ 1-35% vs decaimento *BCR-ABL* >1 logs (= $BCR-ABL/ABL^{IS} <10\%$), e RCgC ausência de Ph+ vs decaimento *BCR-ABL* ≥2 logs (= $BCR-ABL/ABL^{IS} \leq 1\%$). **Métodos:** Foi realizada análise retrospectiva do resultado de RCg e RM de pacientes provenientes do Lab Biol Mol CEMO/INCA. **Resultados e Conclusões:** Os valores de *BCR-ABL/ABL^{IS}* foram agrupados nas seguintes categorias de RCg (RCgC, RCgP, NoRCg). As comparações entre valores médios de RM foram realizadas com teste-t e valores p<0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Uma diferença significativa (p=0,013) foi observada entre valores médios *BCR-ABL/ABL^{IS}* em pacientes com RCgC (n=97) e RCgP (n=29). Uma diferença similar foi observada entre a RCgP e NoRCg (n=16) (p=0,0013). Todos com RCgC obtiveram redução de pelo menos 1 log *BCR-ABL/ABL* e a maioria das amostras deste grupo (98,98%) apresentaram redução de 2 log. Assim, para este estudo uma redução de 2 log (≤1% de *BCR-ABL/ABL^{IS}*) foi equivalente molecular da RCgC. Para pacientes com RCgP, 79% deles obtiveram redução de 1 log. Do grupo de pacientes com Ph+>35%, 4 apresentaram uma redução de 1 log na RM. Nossos Resultados demonstram uma correlação clara entre RCgC e níveis *BCR-ABL/ABL^{IS}* de 1%, o que permite que o parâmetro molecular possa ser utilizado como alternativa ao parâmetro RCgC. Da mesma forma a RCgP poderá ser retratada como equivalente a níveis de *BCR-ABL/ABL^{IS} <10%*. Isto também é importante, pois a avaliação molecular é menos invasiva que a citogenética (SP vs MO); a RCgC é obtida em 85% de pcs com LMC em uso de ITK; biomarcadores moleculares são preditores mais precoces de resposta ou falha terapêutica assim como parâmetros moleculares tendem a ser hoje incorporados nas recomendações do uso de ITK-2G. Além disso, a estabilidade da RCgC está relacionada a sua associação ou não a RMM e a obtenção e estabilidade da RMM se correlaciona com a velocidade de decaimento da carga tumoral dada pelos níveis de *BCR-ABL/ABL^{IS}*.

0376

Apoptomir 16 expression positively correlated to JAK2 allele burden in polycythemia vera

Nunes NS¹, Tognon R¹, Moura LG¹, Kashima S², Tadeu D², Souto EX³, Zanichelli MA⁴, Pin B⁵, Souza AM¹, Castro FA¹

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - FCFRP, Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP

² Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Hospital Brigadeiro, São Paulo, SP

⁴ Instituto de Tratamento do Câncer Infantil - ITACI, São Paulo, SP

⁵ Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Background: Polycythemia Vera (PV) is a clonal bone marrow stem cell disorder characterized for accumulation of morphologically normal erythroid, myeloid and megakaryocytic cell line in absence of definable stimulus. Despite the growing acknowledgment its pathophysiology remains unclear and the treatment still palliative. Dysregulation apop-

osis process seems to be associated to establishment of PV. For this reason the completely understanding about the apoptosis machinery and its possible modulation for microRNA in PV becomes interesting as a new possible therapeutic target. **Aims:** To quantify the miR-16 expression in peripheral leukocytes in Polycythemia Vera (PV) and to correlated the data of microRNA with hematological parameters and JAK2 allele burden. **Methods:** Thirty PV patients (13 males and 17 females with a mean age of 64.7y), 30 healthy subjects (13 men and 17 women, ma=60.2y) and 23 bone marrow donors (14 men and 9 women, m=32.6y). Peripheral leukocytes were obtained by Haes-Sterilmeth total RNA was extracted according to Trizol[®] method and High Capacity[®] Kit was used to synthesize cDNA. The microRNAs expression quantification was performed by real time PCR. Results were given as $2^{-\Delta\Delta Ct}$ and statistical analyses were carried out by Mann-Whitney and Spearman tests. **Results:** We found overexpression of miR-16 level in Polycythemia Vera leukocytes (median= 3.45) when compared to controls (m= 0.483; p= 0.0001) and also found correlations between miR-16 expression and hemoglobin concentration (r=-0.399; p= 0.019), hematocrit percentage (r= -0.379; p= 0.025) and Jak2 allele burden (r= 0.516; p= 0.003). **Conclusion:** The results indicate the involvement of microRNA in PV physiopathology and suggest the future possibility of using these molecules as important markers in PV. Supported by: FAPES 2010/01756-3, 2011/20135-2 and CNPq

0377

Avaliação clínico-epidemiológica dos pacientes com leucemia mielóide crônica na unidade de oncologia de Roraima

Siqueira RS¹, Martin CN², Fonseca AJ², Morais IS¹, Murari RS¹, Carvalho RV², Silva HB¹

¹ Universidade Federal De Roraima – UFRR, Boa Vista, RR

² Unidade De Oncologia De Roraima – UNACON, Boa Vista, RR

Introdução: As leucemias são responsáveis por aproximadamente 2% de todos os tipos de cânceres no mundo, desse total 13% são casos de Leucemia Mielóide Crônica (LMC). A LMC caracteriza-se por uma superprodução de células da linhagem granulocítica, sendo consistentemente associada à presença do cromossomo *Philadelphia* (Ph) e seu produto *BCR-ABL*. No Brasil são escassas as informações sobre dados demográficos, incidência e prevalência dessa neoplasia nas diferentes regiões do país. Nesse contexto, Roraima é um estado isolado geograficamente, com recursos financeiros limitados e uma população heterogênea (imigrantes venezuelanos, guianenses, nordestinos, além de importante quantitativo indígena). Somente após a criação do primeiro serviço de oncologia no estado, em 2008, foi possível tratar esses pacientes na sua localidade de origem. **Objetivo:** Descrever o perfil clínico-epidemiológico e estimar a incidência dos casos de LMC diagnosticados no Serviço de Oncologia de Roraima. **Métodos:** Estudo retrospectivo, observacional, descritivo e transversal com coleta das informações de todos os prontuários de pacientes com diagnóstico de LMC no período entre 01 de julho de 2008 e 30 de junho de 2011. **Resultados:** O levantamento obteve 9 casos de LMC, correspondendo a 12% das neoplasias hematológicas diagnosticadas. A incidência para o estado foi de 0,75 casos por cem mil habitantes/ano. A média de idade foi de 50,2 anos e 6 casos (66,6%) eram do sexo masculino. Ao diagnóstico, 8 (89%) pacientes encontravam-se na fase crônica e um em fase acelerada e todos apresentavam bom *status de performance*, esplenomegalia ausente ou moderada e leucocitose entre 20 e 90 mil leucócitos. Em todos os casos a citogenética foi positiva para o cromossomo Ph e apenas um caso evidenciou alterações adicionais e nos 9 pacientes o Mesilato de Imatinibe foi utilizado como terapia de 1ª linha em dose de 400 ou 600mg/dia. Até o fechamento do estudo todos os casos apresentavam resposta molecular satisfatória. **Conclusões:** Nas estimativas do INCA para Roraima, para os anos de 2008 a 2012 são esperados menos de 15 casos de leucemias em

adultos, não sendo especificados os casos de leucemias agudas ou crônicas. Os Resultados apresentados representam o total de pacientes diagnosticados com LMC em Roraima no período analisado. Desse modo, é possível traçar a incidência e o perfil epidemiológico dessa neoplasia no estado, e constatar que apesar do isolamento geográfico e da limitação de recursos materiais e humanos, a maioria dos pacientes recebeu diagnóstico em estágios precoces e teve acesso a terapias consideradas de primeira linha por protocolos nacionais e estrangeiros. O pequeno número da amostra não permite avaliações estatísticas e um tempo maior de acompanhamento é necessário para avaliar curva de sobrevida e evolução.

0378

Duplicação do derivado de translocação t(3;11) com perda do cromossomo 11 normal e região do gene MLL intacta. Nova alteração citogenética em mielofibro primária

Coelho MR¹, Chaves TS¹, Silva NO¹, Provenzano C¹, Melo KV¹, Solza C¹, Maioli MC¹, Bastos EF^{1,2}

¹ Unidade Docente Assistencial de Hematologia, Hospital Universitário Pedro Ernesto - HUPE, Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, Rio de Janeiro, RJ

² Departamento de Genética, Instituto Fernandes Figueira - IFF, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ

A Mielofibro (MF) é um distúrbio clonal da célula tronco hematopoética (OMS-08 neoplasia mieloproliferativa -NMP). Cerca de um terço dos casos apresenta anomalias citogenéticas: del(20q), del(13q), +8 e +9, anormalidades do cromossomo 1. Outras incluem -7/del(7q), del(5q), del(12p), +21 e der(6)(1;6)(q21;p21.3). Relatamos um caso de MF primária cuja citogenética identificou alteração cromossômica não descrita, caracterizada pela translocação entre os cromossomos 3 e 11, com duplicação do cromossomo derivado e perda do cr 11 normal. A avaliação clínica e acompanhamento foram realizados pelos hematologistas do serviço. O estudo citogenético foi realizado a partir de amostra de medula óssea não estimulada. O material foi corado pela técnica GTG, analisado em microscopia ótica e as imagens adquiridas por um sistema de captura. Foram analisadas 20 metáfases, sendo o cariótipo estabelecido de acordo com o Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética (ISCN, 2009). Na técnica FISH (hibridização *in situ* por fluorescência) foram utilizadas sondas da região do gene *MLL* obtidas comercialmente segundo recomendações do fabricante e os sinais foram analisados pelo sistema de captura de imagens. Paciente do sexo masc, 81 anos, diagnóstico de MF primária há 7 anos, acompanhado com tratamento expectante e conservador. Admitido no HUPE em 09/2011 devido a piora do quadro (astenia e perda ponderal importante). Apresentava hepatoesplenomegalia e cardiopatia (fibrilação atrial crônica e hipertensão arterial), anemia discreta, leucose acentuada e trombocitopenia. A biópsia óssea confirmou o diagnóstico de MF (fibrose grau III). A citogenética clássica evidenciou o cariótipo: 46,XY,t(3;11)(q23;q23),-11,+der t(3;11)(q23;q23)[20]. A análise do gene *MLL* através da FISH foi negativa para rearranjos deste gene. Foi iniciado Hidroxiuréia em 01/2012, suspenso pelo paciente após 3 meses. Em 04/2012, foi internado com urgência, com pneumonia grave e descompensação cardíaca (ICC e FA) falecendo após uma semana sem mudanças nos exames hematológicos. A avaliação citogenética é considerada primordial para o diagnóstico diferencial das doenças mieloproliferativas. A citogenética por GTG neste caso, mostrou uma translocação entre os cromossomos 3 e 11, aparentemente envolvendo a banda q23 do cromossomo 11, onde sabidamente se localiza o gene *MLL* (envolvido em diferentes neoplasias hematológicas). Além disso, havia a presença do cromossomo derivado da t(3;11) duplicado, com ausência do cromossomo 11 normal. A técnica FISH (sonda "break-apart") mostrou integridade da região do *MLL*, o que corrobora com os achados da literatura que raramente relatam alterações de 11q23

em MF. A duplicação do cromossomo derivado com perda do cromossomo 11 normal pode ser consequência de uma evolução clonal, levando à perda de heterozigose de alelos recessivos (genes supressores tumorais) como os genes ATM e/ou WT1 (localizados em 11p), contribuindo para a leucemogênese. Segundo a literatura, nosso caso é o primeiro relato de translocação t(3;11)(q23;q23) associado à MF primária. A documentação de novas alterações cromossômicas associadas a MF pode levar a identificação de novos genes candidatos envolvidos no crescimento neoplásico além de contribuir para a identificação de possíveis fatores de valor prognóstico nesta doença.

0379

O uso de terapias complementares e alternativas em pacientes com leucemia mielóide crônica e sua influência na qualidade de vida

Giglio DB¹, Giglio AD², Piantino DG¹, Alba AP¹, Lucena RV¹, Pissardini AG¹, Castro AC¹, Kim CY¹, Ruiz HT¹, Leao LH¹, Cliquet MG¹

¹ Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

² Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP

A utilização de inibidores da Tirosino-Quinase (TKIs) revolucionou o tratamento da Leucemia Mielóide Crônica (LMC) aumentando significativamente a sobrevida dos portadores desta doença. No meio onco-hematológico o uso de terapias complementares e/ou alternativas (TCA) é cada vez mais frequente, sendo que já foi descrito que mais de 80% dos pacientes com câncer haviam feito uso de alguma destas terapias. **Objetivos:** Neste trabalho avaliamos a frequência do uso de TCA em pacientes portadores de LMC em uso de TKIs e sua relação com uma melhor qualidade de vida (QV). **Métodos:** Foram incluídos 43 pacientes portadores de LMC Filadélfia positivos em uso de TKIs atendidos no Ambulatório de Hematologia do Centro Hospitalar de Sorocaba (CHS) da FCMS/PUC-SP. Para avaliação da QV utilizamos o questionário da Organização Europeia de Pesquisa e Tratamento do Câncer (EORTC) QLQ-C30 versão 3, validada em português. **Resultados:** Entre outubro/2011 e junho/2012 foram incluídos 43 pacientes. A idade média foi de 50 anos (17 a 83 anos) sendo 24 mulheres e 19 homens. 72% dos pacientes disseram usar alguma TCA. As modalidades mais frequentes foram Reza (49%), Atividade física (14%) e pertencer a algum grupo espiritual (14%). Não foi referido uso de acupuntura, massagem ou ioga pelos pacientes. Não observamos correlação entre uso pregresso ou atual de TCA e a pontuação do questionário QLQ C-30. A pontuação do questionário no domínio sintomático tendeu ser inferior (menos sintomas) ($p = 0.1$) em pacientes que acreditam em TCA em comparação com os que não acreditavam, independente de seu uso. Observamos correlação significativa inversa entre QV e idade e pontuação significativamente maior do QLQ C-30 na sua escala de sintomas com sexo masculino. **Conclusão:** Apesar de não se correlacionar com uma melhor QV, o uso de TCA é frequente em pacientes com LMC. Jovens e pacientes de sexo masculino têm melhores pontuações no questionário QLQ C-30.

0380

Eventos adversos em pacientes com leucemia mielóide crônica tratados com mesilato de imatinibe

Miralhes PB, Ruiz HT, Leao LH, Pereira LM, Lucio DS, Camacho EC, Vecina AC, Assis JR, Ferrari G, Davila VL, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

Na última década houve grande avanço no tratamento da Leucemia Mielóide Crônica, tanto na eficácia quanto na toxicidade dos medi-

camentos utilizados. Isso decorre certamente da era dos inibidores da tirosino quinase como o imatinibe. Os eventos adversos ainda ocorrem com frequência, mas geralmente são muito brandos e bem tolerados pelos pacientes, diferentemente do que acontecia com o uso do Interferon com ou sem o Ara-C. Os eventos adversos são em sua maioria não hematológicos, mas as alterações hematológicas aparecem com frequência maior em pacientes com longo tempo de diagnóstico. Através da análise dos prontuários dos pacientes, bem como de entrevista questionando os eventos adversos descritos na literatura e bula do Imatinibe, avaliamos a frequência e características dos mesmos. Os eventos adversos ocorreram em todos os 44 pacientes. Os hematológicos em 19(43,18%) pacientes, ou seja, anemia em 14(31,8%), Neutropenia em 12(27,3%) e plaquetopenia em 12(27,3%) pacientes. Os eventos adversos não hematológicos foram observados ou relatados em todos os pacientes, sendo em ordem de frequência: cãibras-33(75%); aumento de peso-28(63,6%); mialgias-28(63,6%); artralgias-27(61,4%); edema-24(54,6%); náuseas/vômitos-22(50,0%); fadiga-20(45,4%); insônia-20(45,4%); cefaleia-20(45,4%); sudorese-19(43,2%); astenia-18(40,9%); flatulência-18(40,9%); tonturas-17(38,6%); xerostomia-17(38,6%); dor abdominal-15(34,1%); dispepsia-15(34,1%); dispnéia-15(34,1%); diarreia-14(31,8%); ansiedade-14(31,8%); palpitações-14(31,8%); anorexia-11(25%); depressão-11(25%); precordialgia-10(22,7%); rash cutâneo-10(22,7%); alopecia-8(18,2%); prurido-8(18,2%); emagrecimento-7(15,9%); constipação-7(15,9%); nasofaringite-2(4,5%); estomatite-1(2,3%); derrame pleural-1(2,3%), hepatotoxicidade 1(2,3%). Em Conclusão, podemos observar que os eventos adversos são muito frequentes em nossa população de pacientes, ou seja, 30 a 40% apresentam alterações hematológicas e 100% apresentam outras alterações. A maior parte dos pacientes apresenta sintomas que certamente afetam o seu dia a dia e que muitas vezes pode levar o paciente a não aderir totalmente ao tratamento. Correlacionamos a presença de eventos adversos hematológicos com a interrupção no tratamento e com as taxas de resposta e observamos que dos 19 pacientes que os apresentaram, 17(89,5%) interromperam o tratamento e apenas 2(10,5%) não. No grupo que não apresentou eventos adversos hematológicos, um total de 25 pacientes, 11(44%) interromperam o tratamento, enquanto que 14(56%) não. ($p=0,0009$). No primeiro grupo temos as respostas de 17 dos 19 pacientes, ou seja, 12(70,6%) apresentaram Resposta Molecular Maior ou Completa (RMM/C) e 5(29,4%) Resposta Sub-Ótima ou Falha (RSO/F). No segundo grupo, as taxas de resposta avaliadas em 21 pacientes foram, 19(90,5%) RMM/C e 2(9,5%) RSO/F. ($p=0,05$). É interessante notar que o tempo médio para início dos ITK no grupo que apresentou eventos adversos hematológicos foi bem maior do que no grupo sem estes eventos, ou seja, 443,5 dias contra 177 dias. Como todos os pacientes apresentaram eventos adversos não hematológicos, de algum tipo, não foi possível avaliar a influência destes eventos nas taxas de interrupção e de resposta à terapêutica. Consideramos que os eventos adversos são muito frequentes e os hematológicos provocam interrupção do tratamento, prejudicando as taxas de resposta.

0381

Fatores relacionados ao tratamento da leucemia mielóide crônica e resposta

Lucena RV, Giglio DB, Miralhes PB, Castro AC, Pissardini AG, Matos SF, Pereira LM, Lucio DS, Ferraz RA, Ferrari G, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

Vários fatores podem interferir na resposta ao tratamento da Leucemia Mielóide Crônica, como a característica da doença, a adesão, e certamente, tem papel importante nestas taxas de resposta, a dose de inibidor da tirosino quinase (ITK) que o paciente recebe. Como citado, esta é dependente da adesão ao tratamento e da absorção do

medicamento. O tempo para início do tratamento também pode influenciar a resposta já que a doença poderá estar em uma fase mais tardia, piorando as chances de resposta. A toxicidade também pode interferir já que pode levar a menor adesão e também à suspensão ou redução de doses. Decidimos estudar a dose média recebida pelos pacientes, considerando-se a dose recebida por metro quadrado até a obtenção da melhor resposta. Levamos em consideração a interrupção eventual, tanto pelo paciente, como pelo médico assistente em decorrência de eventos adversos. A dose média recebida, assim como o tempo para início do uso dos ITK foi correlacionado com as taxas de resposta observadas de acordo com o European Leukemia Net (ELN). Os Resultados foram os que apresentamos a seguir: A dose média por m² foi de 229mg, muito próxima da mediana que foi de 227,3 mg/m², e variou de 166,7 a 322,6 mg/m². O tempo para início dos inibidores variou de 0 a 2000 dias, com média de 255,6 dias e mediana de 120 dias. Avaliamos as taxas de resposta dos pacientes que receberam doses abaixo da mediana comparando-os com aqueles que receberam doses acima da mesma. Quanto ao tempo para início do tratamento com os ITK, realizamos a mesma análise comparativa, utilizando a mediana como corte. Analisando as taxas de resposta dos pacientes que receberam doses menores ou iguais à mediana, observamos 18(85,7%) pacientes com Respostas Ótimas, ou seja, Molecular Maior ou Completa (RMM/C) e 3(14,3%) que apresentaram Resposta Sub-Ótima ou Falha (RSO/F). Já no grupo que recebeu doses maiores do que a mediana 14(70%), RMM/C e 6(30%) RSO/F.(p=0,11) Não estatisticamente significante(NS). Quando analisamos o tempo para início do uso de ITK, quando este foi menor ou igual a mediana, ou seja, 120 dias, as taxas de RMM/C foram de 83% (20/24) enquanto que nos pacientes mais antigos, que tiveram acesso aos ITK mais tardiamente (> 120 dias), as taxas de RMM/C foram de 58,3% (7/12) (p=0,05). Notamos que o início tardio diminui as chances de resposta, mas a dose por metro quadrado, ao menos na amostra que estudamos, não influencia as taxas de resposta.

0382

Leucemia mielóide crônica: avaliação de alterações citogenéticas e sua influência na resposta ao tratamento

Pissardini AG, Miralhes PB, Kim CY, Giglio DB, Castro AC, Lucio DS, Lucena RV, Pereira LM, Barril ED, Pasuld FL, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

Em nosso meio estamos acostumados a receber pacientes com Leucemia Mielóide Crônica (LMC) apresentando-se ao diagnóstico com grandes leucocitoses e esplenomegalias volumosas. Tais características denotam diagnóstico tardio o que possivelmente piora o prognóstico e as taxas de resposta de nossos pacientes. Outros parâmetros hematológicos como os níveis de hemoglobina, o número de basófilos, de eosinófilos, de blastos e de plaquetas também apresentam importante valor prognóstico e são as bases para os escores de Sokal, Hasford e Euro, valiosos no prognóstico dos pacientes. Além destes parâmetros a presença de outras alterações cromossômicas, além do cromossoma *Philadelphia*, de mutações no gene *BCR/ABL*, e a evolução clonal também interferem no prognóstico. Avaliamos os parâmetros citogenéticos e a presença de mutações em pacientes seguidos no Ambulatório de Hematologia da FCMS da PUCSP e os correlacionamos com as taxas de resposta de acordo com o ELN. Quando avaliamos a presença de outras quebras cromossômicas além do *Philadelphia*, as mesmas foram encontradas em 6/40(15%) pacientes, sendo as seguintes: t(8;12), del 20, t(13;9;22), t(1;8), t(7;22) e um caso com t(1;3) e t(8;22). Avaliando a resposta ao tratamento com o imatinibe, observamos respectivamente, Resposta sub-ótima (RSO), RSO, Falha(F), Resposta Molecular Maior (RMM), RMM e RMM, ou seja, 3(50%) com respostas ótimas e 3(50%) com

RSO e F. Comparando-os aos que não apresentavam outras quebras, observamos 28 (82,3%) com respostas ótimas e 6(17,7%) com RSO e F. (p=0,04) Considerando a evolução clonal, esta ocorreu ao longo do seguimento em 4(10,3%) de 39 pacientes. As alterações foram 7q-iso17, tetrassomia do 8, 47XX+8(2) e 20q-. As respostas foram, respectivamente, RMM, RMC, RMM e RSO, ou seja, 75% de respostas ótimas e 25% de RSO. Comparando estas taxas com as observadas nos pacientes que não apresentaram evolução clonal, observamos RMC e RMM em 80% contra 20% de RSO e F. (p=0,4) Por fim, analisamos a presença de mutações no gene *BCR/ABL* que foram encontradas em apenas 2/44(4,5%) pacientes. Foram elas: T315I e D217G. Ambas apresentaram resposta molecular maior, a primeira com Interferon alfa e a segunda com Dasatinibe. Consideramos que na nossa casuística a presença de outras quebras cromossômicas além do *Philadelphia* ao diagnóstico, reduziu as chances de resposta ao tratamento da LMC, em especial, a t(8;12), a del 20, e a t(13;9;22). Não observamos piora das respostas nos pacientes que apresentaram evolução clonal e em um caso a resposta molecular maior ocorreu mesmo com a presença da mutação T315I, com o uso de Interferon.

0383

Perfil das mutações nos pacientes com leucemia mielóide crônica do Hospital Santa Marcelina, SP

Samico RC¹, Cazeli AB¹, Martins FA¹, Lima AR¹, Cavalheiro RC¹, Bendit I², Conchon M¹, Oliveira JS¹

¹ Casa de Saúde Santa Marcelina, São Paulo, SP

² Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: A introdução dos inibidores de tirosina quinase (ITK), imatinibe, dasatinibe e nilotinibe, mudaram completamente o tratamento da leucemia mielóide crônica (LMC). Entretanto, uma parte dos pacientes com LMC na fase crônica e uma proporção maior nas fases avançadas, podem apresentar resistência, primária ou adquirida, aos ITK. O mecanismo mais frequente de resistência secundária à droga é a ocorrência de mutações pontuais em uma parte da proteína *BCR/ABL*, chamada domínio quinase. Este é o domínio ao qual normalmente se ligam os ITK e, a ocorrência de mutações em sítios deste domínio impede essa ligação. O monitoramento de mutações, quando indicado, é fundamental para o correto seguimento do paciente. **Objetivos:** Verificar a incidência e caracterizar a ocorrência de mutações nos pacientes com LMC, resistentes ao Imatinibe, em acompanhamento na Casa de Saúde Santa Marcelina em São Paulo. **Métodos:** Trata-se de um estudo descritivo retrospectivo com dados obtidos a partir de registros em prontuários médicos de todos os pacientes com diagnóstico de LMC em todas as fases, que apresentaram resistência primária ou secundária ao Imatinibe, desde o início da pesquisa de mutações, em julho de 2008, em nossa instituição. **Resultados:** 59 pacientes com LMC em todas as fases com resistência primária ou adquirida foram pesquisados quanto a presença de mutações. Dos 59 pacientes estudados, 36 (60%) não apresentaram mutação. As mutações foram caracterizadas em 23 casos (40%) sendo 11 homens e 12 mulheres. Foram encontradas 15 tipos de mutações: E279K, M290I, F486J, T240I, F359V, V299L, G250E, M244V, T315I, T277A, M351I, E450G, L387F, D276G, e F317L. Seis delas ocorreram cada uma em um único paciente, sendo elas: E279K, M290I, F486J, T240I, G250E e T277A. A T315I ocorreu em 4 pacientes, configurando a mutação de maior incidência. Em um caso o diagnóstico foi realizado em 15/07/2002, o Imatinibe foi introduzido em 08/10/2003, após 7 anos do uso evoluiu com resistência secundária quando evidenciou a mutação M244V, sendo neste momento introduzido o Nilotinibe. Apresentou resistência também ao Nilotinibe e diagnosticou-se M244V e T315I, neste momento foi indicado o Transplante de Medula Óssea alogênico não aparentado. No outro caso o diagnóstico foi realizado em 10/11/2003. Este apresentou resistência secundária em uso de Imatinibe e foi diagnosticado a mutação F317L,

quando foi substituído por Nilotinibe. Apresentou resistência primária ao Nilotinibe, foi reavaliado e diagnosticado a presença de F359V e V299L sendo introduzido o Dasatinibe. **Conclusão:** Constatamos a presença de mutações em aproximadamente 40% dos pacientes resistentes ao Imatinibe. Esses dados são comparáveis ao da literatura, onde a frequência de mutações em pacientes resistentes varia entre 42 e 50%. As mutações evidenciadas no nosso serviço encontram-se dentre as mais comuns, estando em conformidade com a literatura. Destacamos a presença de dupla mutação em casos com resistência secundária ao ITK de primeira e segunda geração, implicando em troca deste segundo inibidor e ou indicação de transplante.

0384

Influência de fatores sócio-demográficos na resposta ao tratamento da leucemia mieloide crônica

Leao LH, Miralhes PB, Ruiz HT, Kim CY, Giglio DB, Castro AC, Luceana RV, Pissardini AG, Matos SF, Gianini RJ, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

A leucemia mieloide crônica (LMC) acomete indivíduos de todas as idades e de ambos os sexos. O tratamento utiliza inibidores da tirosino quinase que podem ter eficácia diferente em idosos por comorbidades, medicamentos, absorção e acesso a serviços de saúde. A eficácia pode ser diferente entre mulheres e homens por questões biológicas e/ou comportamentais. O tratamento depende do acesso que o paciente tem, da condição educacional, do suporte familiar e condição sócio-econômica. Pode ser importante, também, a procedência, pela distância e estrutura do município de origem com consequentes diagnósticos tardios. A distância do centro de tratamento pode levar a dificuldades (consultas, medicamentos). Através da utilização de questionário, avaliamos a influência dos fatores acima, na resposta ao tratamento da LMC, com Imatinibe. A idade variou de 15 a 78 anos, com mediana de 51 anos, sendo 19(43,2%) homens e 25(56,8%) mulheres. Quanto à escolaridade 6(13,6%) pacientes não tinham nenhuma, 16(36,4%)-1º. grau, 16(36,4 %) -2º.grau, e 5(11,3 %) superior. A distância dos municípios variou de 0(Sorocaba) a 270Km, com mediana de 49Km. A população de 13000 a 586000 habitantes, com IDH de 0,716 a 0,828 – mediana=0,774. O índice de Exclusão Social (IES)-8,07-34,66% e mediana=18,72%. A renda familiar de 1 a 10 salários mínimos (SM) e mediana de 3 SM. A renda *per capita*-0,11 a 5,0 SM, mediana=0,75 SM. 21(47,7 %) informaram ter suporte familiar. Com a mediana (Me) dos dados acima, avaliamos a correlação entre os vários parâmetros e a resposta ao tratamento (EuropeanLeukemiaNet). Encontramos 20 pacientes no grupo abaixo da Me(51 anos) e destes, 17(85%) apresentaram resposta molecular maior ou completa (RMM/C) e 3(15%) resposta sub-ótima ou falha (RSO/F). No grupo com mais de 51 anos, foram 15(71,4%) MM/C e 6(28,6%) SO/F, com diferenças não estatisticamente significantes (NS)(p=0,147). As taxas de resposta foram maiores nos homens 16RMM/C(88,9%) e 2RSO/F(11,1%) do que nas mulheres, 16RMM/C(69,6%) e 7RSO/F(30,4%) =0,06(NS). Quanto à escolaridade, não observamos diferenças estatisticamente significantes (p=0,28), muito embora, tenhamos observado que nos 20 pacientes com 2º.grau e superior, houve RSO/F em apenas 3(15%), contra 5/20(25%) nos de baixa escolaridade. Quanto à procedência observamos: Distância do Serviço de Hematologia <=49Km 24/31RMM/C(77,4%) e > 49Km 8/10(80%)(p=0,43) S; População do município <=40.000 hab. 9/13RMM/C(69,2%) e >40.000 hab.23/28(82,1%)(p=0,17) S; Índice de Exclusão Social<=18,72% - 27/31RMM/C (87,1%) e >18,72% - 5/10(50%) – (p=0,007) ; IDH <=0,774 – 25/30RMM/C(83,3%) e > 0,774 - 7/11(63,6%) – (p=0,08) NS; Avaliando as questões relacionadas à renda: Renda Familiar <=3 salários mínimos – SM – 26/33RMM/C(78,8 %) e >3SM 5/5 (100%) – (p=0,13) NS; Renda *per capita* <=0,75 SM – 3/15RMM/C(73,3%) e >0,75SM – 18/21(85,7%) – (p=0,17) NS; Suporte de familiares – SIM – 16/21RMM/C(76%) contra 16/20(80%) dos sem suporte (p=0,38)

NS. Podemos considerar como influência no resultado do tratamento, apenas o IES do município. Aparentemente, os pacientes mais jovens, e os homens, tiveram maiores taxas de resposta, assim como os indivíduos com maior nível educacional e renda, embora não tenhamos observado diferenças estatisticamente significantes, possivelmente por lidarmos com uma amostra pequena.

0385

Uso de inibidores da tirosino quinase de segunda geração para o tratamento da leucemia mieloide crônica: indicações e Resultados obtidos

Ferrari G, Davila VL, Matos SF, Miralhes PB, Leao LH, Ruiz HT, Kim CY, Pereira LM, Lucio DS, Geraldo VL, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

A leucemia mieloide crônica (LMC) vem sendo tratada no Brasil há praticamente 10 anos com o mesilato de imatinibe, inibidor da tirosino quinase, e com isso vem sendo obtidos Resultados que mudaram a história da doença. Existem, no entanto, pacientes que não apresentam as respostas terapêuticas ideais, perdem as respostas obtidas, ou ainda apresentam toxicidade importante, ou seja, intolerância ao medicamento. Surgiram recentemente dois novos inibidores, denominados de segunda geração, mais potentes e que não apresentam toxicidades cruzadas com o imatinibe, que são o dasatinibe e o nilotinibe. Atualmente temos cerca de 50 pacientes com LMC em seguimento no Ambulatório de Hematologia da FCMS da PUC-SP/CHS e relatamos a seguir, os casos de 11 pacientes tratados inicialmente com o imatinibe, e que, por diferentes motivos, necessitaram receber os novos inibidores. Apresentamos na tabela abaixo os motivos que levaram à troca, o novo inibidor utilizado e a melhor resposta obtida.

Paciente	Inibidor Inicial	Motivo da Troca	Novo Inibidor	Melhor Resposta
TOC	Imatinibe	Perda de Resposta	Dasatinibe	SR
TJLA	Imatinibe	Ausência de Resposta	Dasatinibe	SR
TJLA	Dasatinibe	Toxicidade: Derrame Pleural	Nilotinibe	SR
MACM	Imatinibe	Ausência de Resposta	Dasatinibe	SR
MSL	Imatinibe	Ausência de Resposta	Dasatinibe	SR
MSL	Dasatinibe	Ausência de Resposta	Nilotinibe	RHC
NMO	Imatinibe	Toxicidade: Hematológica	Nilotinibe	Aceleração e Óbito
EA	Imatinibe	Ausência de Resposta	Dasatinibe	RCM
JPF	Imatinibe	Ausência de Resposta	Nilotinibe	SR
JPF	Nilotinibe	Ausência de Resposta	Dasatinibe	RMM
LA	Imatinibe	Gestação/perda de resposta	Dasatinibe	RMM
MRP	Imatinibe	Toxicidade: Hepática	Dasatinibe	RMM
JCC	Imatinibe	Perda de Resposta	Nilotinibe	RMC
NC	Imatinibe	Toxicidade: Hematológica	Nilotinibe	RMC

R H C – Resposta Hematológica Completa; R C M – Resposta Citogenética Maior; R M M – Resposta Molecular Maior; R M C – Resposta Molecular Completa; S R – Sem Resposta.

Observamos que 6(54,5%) pacientes apresentaram RMC, RMM ou RCM, enquanto que 5(45,5 %) não apresentaram respostas satisfatórias. Estes últimos, ou estão em fases crônicas tardias (2), ou tem problemas sérios de adesão ao tratamento (2), enquanto que uma paciente evoluiu para aceleração e óbito poucos meses após o diagnóstico. Em Conclusão, nesta casuística, os novos inibidores foram eficazes em pacientes que trocaram a droga inicial por toxicidade ou naqueles que perderam resposta.

0386

Adesão e interrupção no tratamento da leucemia mieloide crônica com o imatinibe

Ruiz HT, Leao LH, Kim CY, Giglio DB, Castro AC, Lucena RV, Pis-sardini AG, Alba AP, Pasuld FL, Assis JR, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

É fato conhecido que a adesão a tratamentos prescritos pelos médicos fica sempre abaixo do ideal o que também ocorre no tratamento da Leucemia Mieloide Crônica. Existem vários estudos mostrando que a resposta ao tratamento com os inibidores da tirosina quinase(ITK) é diretamente proporcional à adesão ao tratamento e podemos observar que alguns pacientes que apresentam toxicidade, ou que apresentam impedimentos como gestação, quando param o tratamento perdem a resposta. Estudo recente mostrou que a não administração do ITK por mais de 3 dias no mês leva a uma chance de resposta muito menor do que a daqueles que apresentam uma adesão maior ao tratamento. Em virtude de termos uma população mais carente do que a destes estudos, além de problemas de abastecimento, diagnóstico tardio com quadros mais avançados, decidimos avaliar através de questionário a adesão ao tratamento. Avaliamos se houve alguma interrupção, por quanto tempo, número de dias por mês em que ocorre falha na administração e correlacionamos estes dados com a resposta obtida, utilizando os critérios do European Leukemia Net (ELN). De um total de 44 pacientes, 28(63,6%) relataram interrupções no tratamento. As interrupções foram de 0 a 365 dias com média de 39,58 dias e mediana de 7 dias. Os pacientes relataram que interrompem o tratamento em média 3,7 dias por mês com mediana de 7 dias. Os motivos para a interrupção foram variados: esquecimento 12(42,8%), falta do medicamento 5(17,8%), falta e esquecimento 1(3,6%), intolerância 5(17,8%), hepatite C 1(3,6%), gestação 1(3,6%) e decidiu não tomar por achar que estava bem 3(10,7%). Analisando a resposta ao tratamento dos pacientes que interromperam o tratamento, em comparação com aqueles que nunca interromperam, observamos que as taxas de resposta no grupo que relatou interrupções foram de 21/28(75%) Respostas Molecular Maior e Completa (RMM/C) contra 11/13(84,6%) dos que nunca interromperam. ($p=0,24$) Não Significante – NS. Analisando o tempo total de interrupção relatado, observamos que aqueles que interromperam por menos de 7 dias, um grupo de 10 pacientes, excluindo os que não interromperam o tratamento, tiveram taxas de resposta de 100%, não havendo falha ou Resposta sub-ótima em nenhum dos pacientes deste grupo, enquanto que no grupo com interrupções maiores do que 7 dias, 6/14(42,8%) apresentaram respostas sub-ótimas ou falhas. ($p=0,001$) Quando avaliamos o número de dias por mês em que o paciente interrompia o tratamento, no grupo que o fazia por 3 ou mais dias, as taxas de resposta foram de 5/8RMM/C(62,5%) e 22/24(91,7%) naqueles que interrompiam por menos de 3 dias/mês. ($p=0,02$) Em Conclusão, é clara a importância da adesão, e a interrupção por mínimos períodos leva a menores taxas de resposta. Por esses motivos, medidas de orientação, fazendo com que o paciente entenda o seu tratamento e os riscos, e mecanismos de controle são essenciais para que tenhamos taxas de resposta semelhantes às da literatura.

0387

Perfil dos pacientes com leucemia mieloide crônica e análise da adequação terapêutica em um centro de alta complexidade em oncologia (Cacon) do Brasil

Albuquerque CA^{1,2}, Oliveira DS³, Sousa TB³, Silva SL^{1,2}, Lisboa RP³, Costa PF^{1,3,4}

¹ Universidade de Fortaleza - UNIFOR, Fortaleza, CE

² Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, Fortaleza, CE

³ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

⁴ Centro Regional Integrado de Oncologia – CRIO, Fortaleza, CE

Objetivos: A LMC é uma Neoplasia que teve seu prognóstico drasticamente modificado pelo uso de Inibidores de Tirosina Quinase (ITQ), medicamentos de alto custo cujo uso requer metas terapêuticas e monitoramento de alta demanda financeira. Esse trabalho objetiva compreender o Perfil Epidemiológico dos pacientes diagnosticados com LMC em um CACON, o Centro Regional Integrado de Oncologia, no Nordeste do Brasil e compreender o seguimento terapêutico desse grupo. **Métodos:** estudo caso controle através de revisão de registros médicos de 40 (100%) pacientes em tratamento para LMC no CACON selecionado. A definição de Paciente Válido para Análise (PVA) refere-se ao fato do grupo ter tempo de doença em tratamento com ITQ Superior ou Igual ao previsto para data de monitoramento. **Resultados:** A amostra exibe uma prevalência do sexo masculino (67%) com mediana de idade ao diagnóstico de 50,8 anos para homens e 50,5 anos para mulheres. A maioria dos pacientes do sexo Masculino apresentava Risco Sokal Intermediário (42,3%) e do sexo Feminino Sokal Alto (50%). Ao diagnóstico 83% dos pacientes se encontravam em Fase Crônica, 13% em Fase acelerada e 4% em Fase Blástica. O MI foi o primeiro ITQ utilizado em todos os casos e o tempo médio entre o diagnóstico e esta terapia foi de 9,4 meses (mediana = 6/DP=10,72). Ao avaliar o padrão de monitorização, percebe-se que no período de três a seis meses (PVA = 75%) apenas 16,7% realizou Estudo Citogenético (EC) e 93,3% hemograma. De seis a doze meses, (PVA = 65%) 42,3% realizou EC e 100% hemograma. De doze a dezoito meses (PVA = 60%), 45,8% realizou EC e 100% hemograma. No período iniciado aos dezoito meses de tratamento dos (pva = 50%), 70,0% realizou EC e 90,0% hemograma. Verificou-se, ainda, que 33% da amostra total apresentou falha terapêutica ao uso de Imatinibe, sendo 61,5% por Falha citogenética e 38,5% por Reações Adversas Graves à droga. Este grupo utilizou como segunda linha de terapia o Dasatinibe (76,9%) ou o Nilotinibe (23,1%) e verificou-se que EC para monitorização foi realizado somente em 22,2% da amostra válida aos três meses (N=10), 28,6% da amostra válida (n=8) aos seis meses, 40% da amostra válida aos doze meses (n=6) e 40% da amostra válida aos dezoito meses (n=5). **Discussão:** A maioria dos estudos sugere um pico de incidência entre 45 e 50 anos com predominância do sexo masculino, o que condiz com os Resultados encontrados neste estudo. Segundo recomendações da *LeukemiaNet* baseado no Estudo IRIS, deve-se realizar EC dos pacientes antes do início do MI e posteriormente a cada 3 meses até obter Resposta Citogenética e Molecular completa, quando se sugere avaliação semestral. Em nosso estudo foi evidenciado que grande parcela dos pacientes não realiza EC conforme as recomendações internacionais e que o Hemograma foi o exame utilizado para acompanhamento, possivelmente pelo seu baixo custo e fácil acesso. **Conclusão:** Os aspectos demográficos da população brasileira de pacientes com LMC apresenta perfil semelhante ao observado internacionalmente. Verifica-se que o Perfil de Monitoramento adotado no Sistema Público brasileiro diverge dos protocolos propostos pelos estudos internacionais, o que evidencia a necessidade de desenvolvimento de estratégias próprias para acompanhamento dos nossos pacientes.

0388

Análise do uso de inibidores de tirosino quinase na leucemia mieloide crônica em um centro de alta complexidade de oncologia do CearáAlbuquerque CA^{1,2}, Sousa TB¹, Costa PF^{1,3,4}¹ Universidade de Fortaleza - UNIFOR, Fortaleza, CE² Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, Fortaleza, CE³ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE⁴ Centro Regional Integrado de Oncologia – CRIO, Fortaleza, CE

Objetivos: O perfil de prognóstico da LMC foi modificado pelo advento dos Inibidores de Tirosino Quinase (ITQ), drogas que inibem a ativação dos sinais que propiciam a transformação neoplásica da célula. O Mesilato de Imatinibe (MI) foi a primeira droga utilizada para este fim. Secundariamente surgiram outras drogas com mecanismos de ação diferentes, como o Dasatinibe e o Nilotinibe. Obstante aos benefícios oferecidos por estas drogas, há um índice significativo de resistência e intolerância aos ITQ. Esse trabalho visa avaliar a resposta, assim como compreender os possíveis fatores envolvidos na Resistência e Intolerância aos ITQ. **Métodos:** Estudo caso controle através de revisão de registros médicos cuja amostra de 40 pacientes representa 100% da população período estudado (Janeiro à Julho 2011), analisados no programa SPSS. Aprovado pelo comitê de ética em pesquisa. **Resultados:** a abordagem inicial adotada foi com Hidroxiuréia em 93% dos pacientes, MI em 5% do grupo e Interferon em 2%. 100% dos pacientes deram continuidade ao tratamento com um ITQ, sendo o MI a primeira escolha em 100% do grupo. 12,5% da amostra realizou citogenética aos três meses e, destes, 100% evidenciou Resposta Ótima (RO). Aos seis meses 27,5% da amostra inicial realizou citogenética e, destes, 54,5% apresentou RO, 18,1% resposta Sub Ótima (RSO) e 27,3% evidenciou Falha ao tratamento. Aos doze meses, 27,5% dos pacientes realizou citogenética e, destes, 45,5% apresentou RO, 45,5% RSO e 9,0% Falha. Aos dezoito meses, 35% da amostra realizou citogenética e, destes, 71,4% apresentou RO, 14,3% RSO e 14,3% Falha. Com pacientes estratificados pelo Risco Sokal, Falha ao MI ocorreu em 38,5% com alto risco, 23,1% com risco intermediário e 38,5% com baixo risco. A mediana para tempo entre o diagnóstico e início da terapia com MI foi de cinco meses (1-20) para pacientes que não apresentaram falha e oito meses (1-60) para pacientes que apresentaram (p=0,0724). A mediana de idade ao diagnóstico foi de 47 anos (22,5 a 74,4) para pacientes que não apresentaram Falha, 55anos (24,2 a 81,5) para os que apresentaram Falha ao MI (p=0,277). Verificou-se, ainda, que 33% da amostra total apresentou falha terapêutica ao uso de MI, sendo 61,5% por Ausência de Resposta Adequada à droga, evidenciada por método citogenético ou progressão clínica da doença, e 38,5% por Reações Adversas Graves à droga. Este grupo utilizou como segunda linha de terapia o Dasatinibe (76,9%) e o Nilotinibe (23,1%). Dos pacientes que evidenciaram Falha com MI, 36,4% apresentou nova Falha terapêutica ao segundo ITQ. **Discussão:** O índice de falha terapêutica ao MI da nossa amostra foi semelhante ao divulgado pelos estudos internacionais de 34% (IRIS seis anos). Esse dado pode se dar em virtude do tempo de acompanhamento médio dos pacientes, inferior ao do estudo IRIS, ou das características próprias da nossa população. Embora com significância questionável (p=0,072), foi evidenciado que o tempo entre o diagnóstico e o início da terapia com MI foi superior nos pacientes que apresentaram Falha terapêutica. **Conclusão:** A resposta aos ITQ em pacientes com LMC em nosso estudo se apresenta semelhante aos demais estudos internacionais. O tempo entre o diagnóstico e início da terapia com MI parece refletir na resposta aos ITQ.

0389

Síndrome hipereosinofílica crônica: avaliação do rearranjo FIP1L1-PDGFR e acompanhamento da resposta molecular em pacientes tratados com imatinibe

Moura MS, Benevides TL, Almeida D, Delamain MT, Duarte GO, Lorand-Metze IG, Souza CA, Traina F, Vassallo J, Pagnano KB

Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: A síndrome hipereosinofílica crônica (SHC) pode estar associada à fusão do gene *PDGFR* (platelet derived growth factor receptor) com o gene *FIP1L1* do cromossomo 4, codificando uma quinase constitutivamente ativada. Os casos que apresentam o rearranjo *FIP1L1-PDGFR* em geral apresentam uma boa resposta ao tratamento com imatinibe. O objetivo desse trabalho foi caracterizar a presença do rearranjo *FIP1L1-PDGFR* em pacientes com SHC e fazer o acompanhamento molecular após o início do imatinibe. **Métodos:** foram avaliados pacientes com diagnóstico de SHC e com presença do rearranjo *FIP1L1-PDGFR* tratados no nosso centro. Os pacientes foram tratados inicialmente com prednisona 1mg/kg e a partir da disponibilidade, com imatinibe 100 mg/dia, com retirada lenta da prednisona. Foi extraído RNA total de amostras de medula óssea e/ou sangue periférico para análise do rearranjo *FIP1L1/PDGFR* através de RT-PCR qualitativo. As amostras foram coletadas ao diagnóstico e a cada 3 meses após o início do imatinibe. **Resultados:** Foram analisados quatro pacientes do sexo masculino com diagnóstico de SHC entre maio de 2010 e abril de 2012, com idade entre 21 e 64 anos. Os sintomas iniciais foram astenia, perda de peso, sudorese noturna. O rearranjo *FIP1L1/PDGFR* foi detectado em todos os pacientes ao diagnóstico. Em 2 pacientes no FISH com sonda *FIP1/CHIC2PDGFR* deletion/fusion foi observado um sinal correspondente ao gene *CHIC2*, sugerindo deleção heterozigótica desse gene. Hemoglobina: mediana de 11,2 g/l (8,6-15,0); leucócitos: mediana 17,8x10⁹/l (8,3-32,2); plaquetas 188x10⁹/l (136-232). As biópsias de medula óssea foram compatíveis com neoplasia mieloproliferativa crônica, sendo observada hiperplasia de eosinofilia acentuada. Fibrose acentuada e expressão de *c-kit* foi achada em 2 casos. Todos os pacientes apresentaram resposta hematológica com redução da leucocitose e da eosinofilia em uma média de 16,5 dias de tratamento com imatinibe. Três pacientes apresentaram resposta molecular completa após três meses de tratamento. O quarto obteve resposta molecular sustentada (2 amostras consecutivas sem o rearranjo *FIP1L1/PDGFR*) após 16 meses de tratamento. Um dos pacientes iniciou recentemente imatinibe e ainda não tem 3 meses de seguimento para avaliação da resposta molecular. Três pacientes permanecem em seguimento. Um paciente foi a óbito por quadro infeccioso pulmonar, e agravamento de insuficiência cardíaca e renal previamente existentes. **Conclusões:** A instituição do tratamento com mesilato de imatinibe para os casos de SHC com presença do rearranjo *FIP1L1/PDGFR* deve ser a mais breve possível, considerando que estes pacientes apresentam altas taxas de resposta clínica, hematológica e molecular e boa tolerância ao tratamento crônico com baixas doses de imatinibe. O monitoramento molecular é um método sensível para o acompanhamento de doença residual mínima.

0390

The cytoskeleton proteins VASP and Zyxin participate in hematopoiesis and in the BCR-ABL signaling pathway

Bernusso VA, Machado-Neto JA, Saad ST, Barcellos KS

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

VASP and Zyxin are cytoskeleton regulatory proteins. They act as a protein complex involved in the signal transduction for actin polymerization, in the control of cell adhesion, cell division and cellular motility. VASP and Zyxin are abnormally expressed in epithelial tumors and they are related with tumor progress. VASP is a substrate of the *BCR-ABL* oncoprotein and it is tyrosine-phosphorylated in *BCR-ABL* leukemic cells. However, it is not known the function of VASP and Zyxin in hematopoietic cells and in the *BCR-ABL* pathway; in addition their possible participation in chronic myeloid leukemia (CML) remains an interesting issue to be clarified. To evaluate the effects of VASP and Zyxin silencing in cell proliferation, apoptosis and differentiation of *BCR-ABL* K562 cells. shRNA-lentiviral delivery was used to silence VASP and Zyxin expression in K562 cell line. The shRNA-lentiviral control, VASP and Zyxin cells were treated with different Imatinib concentrations (0, 0.1, 0.5 and 1 μ M) during 48 hours. Cellular proliferation was measured by MTT assay and apoptosis by flow cytometry with annexin-V. To differentiate cells into megakaryocyte, K562 cells were treated with 20nM of PMA during 4 days and cells were evaluated by the presence of CD61 and CD41 cell markers by flow cytometry. The expression of VASP and Zyxin in cells submitted to megakaryocyte differentiation was evaluated by quantitative PCR and western blotting; protein phosphorylation was also analyzed by western blotting. The interaction of *BCR-ABL* and VASP after imatinib treatment was evaluated by co-immunoprecipitation. Zyxin silenced cells treated with 0.5 μ M and 1 μ M of Imatinib showed decrease of 17% ($P < 0.05$) and 22% ($P < 0.01$) in cell proliferation, respectively, compared to the control treated cells. In K562 cells treated with 1 μ M of Imatinib, VASP and Zyxin silencing increased apoptosis in 21% ($P < 0.05$) and 40% ($P < 0.05$), respectively. VASP and Zyxin gene expressions were upregulated during megakaryocyte differentiation of K562 cells (8.7-fold increase, $P = 0.0115$, and 3.6-fold increase, $P = 0.015$, respectively). In HEL cells (*BCR-ABL* negative cell line) VASP and Zyxin protein expressions were increased during megakaryocyte differentiation, including the active form of these proteins (phosphorylated VASP serine 157/239 and phosphorylated Zyxin serine 142). VASP silencing in K562 cells resulted in a 40% decrease of CD61 expression at the end of the megakaryocyte differentiation ($P < 0.05$), while Zyxin silencing resulted in a 15% decrease of CD41 expression ($P < 0.01$). VASP expression was reduced during Imatinib treatment of K562 cells, as well as its interaction with *BCR-ABL* protein. In addition, VASP silencing resulted in a decrease of FAK phosphorylation, an effector of the *BCR-ABL* pathway involved in cellular adhesion of K562 cells. VASP and Zyxin proteins have a role in the hematopoiesis, including the megakaryocyte differentiation. Alterations in VASP and Zyxin expression affect differentiation and apoptosis of hematopoietic cells. VASP may participate in the *BCR-ABL* signaling pathway of leukemic cells, affecting leukemic cell adhesion through FAK activity. The elucidation of VASP and Zyxin functions will help to elucidate the mechanisms of hematopoietic disorders, as CML and others.

0391

Aquisição da monossomia do cromossomo 7 em pacientes com leucemia mielóide crônica e uso crônico de GCS-F: relato de caso

Vieira FC, Valgas I, Amaro NS, Cardoso PN, Bonito DR, Bollmann PW, Bigonha J, Borducchi D, Giglio AD

Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP

Introdução: A aquisição da monossomia do 7 em pacientes sob uso crônico de GCS-F com anemia aplásica e leucemia mielóide crônica (LMC) tem sido descrita na literatura. **Métodos:** Descreveremos o caso de duas pacientes jovens com o diagnóstico recente de LMC tratadas com Imatinibe que fizeram uso crônico e prolongado de GCS-F em virtude de mielossupressão severa (neutropenia grau IV) e posterior evolução clonal com surgimento da

monossomia do cromossomo 7, nas células *Philadelphia* negativas. Descrição dos Casos: - Caso 1: MNT, 30 anos, sexo feminino, natural e residente em Mauá (SP), admitida no Hospital Estadual Mário Covas (HEMC) em maio de 2009, com diagnóstico de LMC fase crônica com Cariótipo 46, XX t(9;22)(q31;q11)[20]. Iniciado Imatinibe 400mg/dia, com frequentes reduções e suspensões devido neutropenia grau IV. O controle citogenético após 18 meses evidenciou: 45, XX,-7[27]/46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[2]/46,XX[1]. - Caso 2: LPL, 38 anos, sexo feminino, natural e residente de Santo André (SP), admitida no HEMC em janeiro de 2010, diagnóstico de LMC fase acelerada (plaquetas ao diagnóstico de 85.000/mm e fibrose medular grau 2 com cariótipo inicial 46, XX, t(9;22)(q31;q11) [20]. Devido a ter apresentado neutropenia grau IV com hidroxúria, foi optado por iniciar Imatinibe 400mg/d. Entretanto, em virtude da neutropenia grau IV, a despeito da redução de doses e uso de fator de crescimento de granulócitos, o Imatinibe foi suspenso. O cariótipo após 12 meses demonstrou: 46, XX, t(9;22)(q34;q11.2) [17]/45,XX,-7[13]. Atualmente ambas as pacientes recebem inibidor de tirosinquinase de segunda geração em dose reduzida, devido neutropenia grau III, enquanto aguardam busca de doadores para transplante de células tronco hematopoiéticas não aparentado. Ambas não possuem até o momento evidência de transformação para leucemia mielóide aguda (LMA) ou síndrome mielodisplásica (SMD). **Discussão:** A monossomia do cromossomo 7 constitui uma alteração citogenética frequentemente associada a SMD e LMA relacionada ao tratamento. Na literatura há relatos da aquisição da monossomia do cromossomo 7 e evolução para SMD e LMA em pacientes com hemopatias sob uso crônico de GCS-F. Entretanto, ainda é incerto se existe uma ligação entre esta associação. O uso prolongado de GCS-F em pacientes com doenças hematológicas poderia estimular uma instabilidade genética; por outro lado, a aquisição da monossomia do 7 poderia representar evolução clonal da hemopatia por si só. Séries com maior numero de casos poderão elucidar se há uma relação causal.

0392

Estado funcional de idosos com neoplasias mielóides: aplicação de quatro escalas, correlação com idade e hemoglobina, resultando em abordagem terapêutica mais apropriada

Carbonell AL, Salhab RM, Cendoroglo MS, Chauffaile ML

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Introdução: O estado funcional é o grau de independência de um paciente nas atividades básicas (como alimentação, higiene pessoal, continência fecal e urinária) e instrumentais (relacionadas a funções mais complexas como utilização de telefone e capacidade de locomoção na cidade) da vida diária. É uma variável utilizada como critério de inclusão dos idosos nos protocolos terapêuticos onco-hematológicos. Os instrumentos usualmente utilizados pelos hematologistas são as escalas ECOG e de Karnofsky (KPS) e, pelos geriatras, as escalas das atividades básicas e instrumentais da vida diária (AVD e AIVD). O objetivo desse estudo foi aplicar as quatro escalas para avaliar o estado funcional de pacientes idosos com neoplasias mielóides e correlacionar os escores obtidos com a idade e o nível de hemoglobina. **Métodos:** Foram avaliados 67 pacientes idosos com neoplasias mielóides do ambulatório de Hematologia da UNIFESP. O coeficiente de Spearman (Fisher e van Belle, 1993) foi calculado para medir a correlação entre os escores obtidos na aplicação da KPS, ECOG, AVD e AIVD a idade e o nível de hemoglobina, mensurado num prazo máximo de 20 dias antes da avaliação do estado funcional do paciente. **Resultados:** A média de idade dos pacientes estudados foi de 73 anos (60 – 90 anos) e de hemoglobina foi de 11,7 g/dL (3,5 – 16,8 g/dL). As medianas dos escores obtidos pelas escalas foram: KPS = 90 (30 – 100); ECOG 0 (0 – 3); AVD = 6 (1 – 6) e AIVD = 26

(9 – 27). Foi evidenciada correlação significativa da Hb com KPS ($p < 0,001$), ECOG ($p < 0,001$), AVD ($p < 0,014$) e AIVD ($p < 0,017$) e da idade com a escala AIVD ($p < 0,005$). Cinquenta e três pacientes (79%) apresentaram bom desempenho funcional (KPS $\geq 80\%$ e ECOG < 2). Desse grupo de idosos, 25 (47%) apresentaram alguma dependência nas atividades básicas ou instrumentais da vida diária. **Discussão:** Habitualmente, hematologistas aplicam o KPS e o ECOG, que são escalas que detectam o desempenho do indivíduo de forma global, como critérios de inclusão para os pacientes idosos nos protocolos de tratamento oncohematológicos. No presente estudo foi avaliado o estado funcional de um grupo de idosos com neoplasias mielóides aplicando-se além do KPS e ECOG, escalas geriátricas elaboradas com perguntas mais específicas das atividades da vida diária. A agregação de escalas AVD e AIVD aumentou a especificidade da avaliação uma vez que elas detectam mais precisamente as atividades diárias nas quais os idosos necessitam de ajuda. Como o envelhecimento, a neoplasia, a anemia e a toxicidade do tratamento podem ter impacto negativo na funcionalidade do idoso, foi possível, nesse estudo, correlacionar o estado funcional com o nível de hemoglobina. Esta avaliação, de simples e rápida execução, detecta o efeito do tratamento na qualidade de vida desses doentes e enseja uma abordagem terapêutica mais apropriada dentro do contexto clínico.

0393

Caracterização dos transcritos p210 em 140 pacientes com leucemia mielocítica crônica

Brites PC, Rodrigues JN, Hannel L, Pereira FB, Nora MD, Chiesa J, Pereira DV, Cóser VM, Pereira WV

Serviço de Hematologia-Oncologia do Hospital Universitário de Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS

Introdução: A Leucemia mielóide crônica (LMC) é uma doença proliferativa do sistema hematopoiético, cujo principal marcador biológico, cromossomo *Philadelphia*, é uma translocação recíproca t(9;22)(q34;q11) observada em 95% dos pacientes, formando o gene híbrido *BCR/ABL*. A partir deste gene são transcritos diferentes tipos de mRNA que podem ser co-expressos e codificam a proteína de 210-KDa (p210) com papel crucial no desenvolvimento na leucemogênese. **Objetivos:** Determinar a frequência dos diferentes transcritos presentes na LMC e sua associação com faixa etária, contagem leucocitária, plaquetas, hemoglobina e citogenética dos pacientes ao diagnóstico. **Métodos:** Trata-se de um estudo retrospectivo dos pacientes com diagnóstico de LMC do Serviço de Hematologia-Oncologia do Hospital Universitário de Santa Maria, no período de 2000 a 2012. **Resultados:** Foram analisados 140 pacientes, 80 masculinos (57%) e 60 femininos (43%), com idade mediana de 49 anos (7 a 88). A citogenética ao diagnóstico demonstrou que 15/140 (11%) casos apresentaram alterações adicionais a t(9;22): +8, +19, duplo Ph+/-Y, -Y, t(1;18)(q21;q22), t(4;6)(p15;q14), add(1)(p36), inv(9)(p13q21), idicder(22) (9;22), 49,XY,t(9;22)(q34;q11),+5,+19,+21, del(12)(p12) e translocações variantes envolvendo os cromossomos 1, 10, 11 e 14. Cariótipo normal foi observado em dois pacientes, confirmados *bcr/abl* p210 por PCR e FISH. Em 9/140 pacientes o diagnóstico foi somente por citogenética. Os Resultados demonstraram que 54% (71/131 pacientes) apresentaram o transcrito do tipo b3-a2, com mediana de idade de 50 anos (14 a 78), média de leucócitos: 224.122/mm³ (2.500 a 962.000), média de plaquetas: 454.571/mm³ (5.000 a 1.512.000) e média de hemoglobina: 10,9g/dl (5,1 a 15); 35% (46/131 pacientes) apresentaram o transcrito b2-a2 com mediana de idade de 44 anos (10 a 81), média de leucócitos: 212.955/mm³ (21.500 a 764.000), média de plaquetas: 409.687/mm³ (42.000 a 1.376.000) e média de hemoglobina: 10,8g/dl (4,9 a 14); 10% (13/131 pacientes) apre-

sentaram co-expressão dos transcritos b3-a2 b2-a2, com idade mediana de 43 anos (7 a 88), média de leucócitos: 163.208/mm³ (16.150 a 474.760), média de plaquetas: 731.130/mm³ (75.000 a 2.144.000) e média de hemoglobina: 11,5g/dl (7,4 a 14). O transcrito raro b3-a3 foi detectado em um paciente de 43 anos com 175.800/mm³ leucócitos, 814.000/mm³ plaquetas e 10,6g/dl de hemoglobina. **Conclusão:** Entre os três grupos de pacientes houve uma predominância do transcrito b3-a2, que tem sido associada com um prognóstico menos favorável, em relação àqueles com transcrito b2-a2, devido às altas contagens de células do sangue. A frequência das alterações adicionais e translocações variantes, idade média e a maior prevalência do sexo masculino deste estudo estão de acordo com as características da LMC.

0394

Validação da expressão do gene *ACLY* em células do sangue periférico de pacientes portadores de leucemia mielóide crônica como indicador de resposta ao mesilato de imatinibe

Maia AL¹, Moreira-Nunes CF^{2,3}, Beltrão AC⁴, Amaral CE³, Azevedo TC⁴, Lemos JA^{2,3}

¹ Escola Superior da Amazônia – ESAMAZ, Belém, PA

² Universidade Federal do Pará – UFPA, Belém, PA

³ Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – Hemopa, Belém, PA

⁴ Hospital Ophir Loyola, Belém, PA

Introdução: A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa que tem origem na célula tronco hematopoiética, caracterizada pela presença do cromossomo Philadelphia. Esta doença apresenta três fases distintas (crônica, acelerada e blástica) com curso crônico silencioso. A maioria dos brasileiros quando diagnosticados já estão em fase crônica tardia, acelerada ou até mesmo blástica reduzindo assim a resposta ao tratamento. O aumento na prevalência da LMC é atribuído ao tratamento com mesilato de imatinibe (MI). Um dos maiores desafios no estudo do câncer tem sido a identificação de marcadores, os quais podem esclarecer vias do metabolismo para a síntese de moléculas utilizadas como fármacos. Apesar da doença ser bem controlada, o MI não leva à cura, devido à incapacidade do mesmo não eliminar as células tronco leucêmicas quiescentes. Diversos genes se expressam diferencialmente nas células tronco de pacientes frente aos controles normais, os quais podem exercer algum papel na leucemogênese e na manutenção da célula tronco leucêmica. Recentemente, foram descritos genes envolvidos no metabolismo de carboidratos, lipídios, enzimas mitocondriais e metabolismo de nucleotídeos, os quais estão envolvidos com a oncogênese. Esta nova abordagem teve grande impulso com a descoberta recente que o HDL (High-density lipoprotein) colesterol atua como fator de contenção da célula tronco hematopoiética para divisão diferenciação para leucócitos/monócitos. A expressão diferencial do gene *ACLY* (ATP citrato liase) foi encontrada em células CD66b+ em pacientes em resposta ótima ao MI (Moreira-Nunes *et al.* Blood 118: 4426). Este gene codifica uma enzima chave na síntese de lipídios e está envolvido na geração de acetil-CoA e oxalacetato a partir de citrato. **Objetivos:** O objetivo do presente trabalho é quantificar a expressão do gene *ACLY* em células do sangue periférico em pacientes portadores de LMC com diferentes respostas ao tratamento, para validá-lo como um gene envolvido na resposta ao MI. **Métodos:** Foram analisados 37 pacientes portadores de leucemia mielóide crônica e 16 indivíduos controles normais. Estas amostras foram submetidas a extração de RNA e PCR em tempo real. O cálculo da expressão gênica foi feito com base na proporção dos CTs alvo/ctrl de acordo com a seguinte fórmula: $[2^{-\Delta CT} ACLY/2^{-\Delta CT} ABL]$ descrito por Lemos *et al.* (Genet Mol Res 4: 803, 2005). Os Resultados foram analisados estatisticamente utilizando

o teste de *Mann-Whitney* para comparação da expressão entre pacientes e controles. **Resultados:** A expressão encontrada no grupo controle foi o dobro da encontrada nos pacientes (1,66 vezes) em resposta subótima ($P=0,004$). Os pacientes que estavam em resposta ótima apresentam expressão mais elevada do que os pacientes em resposta subótima, em relação ao controle ($P=0,102$), portanto sem diferença significativa entre grupo controle e grupo com resposta subótima. **Conclusão:** Concluímos que a expressão do gene *ACLY* em níveis próximos da normalidade no grupo dos pacientes em resposta ótima, possui alguma influência na boa resposta ao tratamento.

0395

Caracterização molecular de uma coorte Brasileira de pacientes com neoplasias mieloproliferativas crônicas clássicas BCR-ABL negativas

Ayres-Silva JP¹, Gouveia ME², Coutinho DF¹, Solza C³, Daumas AH², Monte-Mór BC¹, Bonamino MH¹, Zalcberg IR¹

¹ Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Universidade Federal Fluminense – UFF, Niterói, RJ

³ Universidade Estadual do Rio de Janeiro

As neoplasias mieloproliferativas crônicas (NMPC) são um grupo de doenças caracterizadas por uma proliferação hematopoética anormal e a presença da mutação p.Val617Phe (V617F) no gene *JAK2* em virtualmente todos os pacientes com Policitemia Vera (PV), e cerca de metade dos diagnosticados com Trombocitemia Essencial (TE) e Mielofibrose (MF). Neste estudo abordamos a busca de marcadores moleculares que tenham impacto na definição de cada uma das doenças ou na predição da resposta terapêutica. Com este objetivo analisamos a carga alélica da mutação V617F trimestralmente, bem como mutações no éxon 10 de *MPL*, nos éxons 12 e 14 de *JAK2*, e nos genes *IDH1/2* e *TET2* buscando identificar subgrupos moleculares de estudo. Para detecção da V617F foi padronizada uma técnica de PCR alelo específico e a determinação da carga alélica foi realizada por PCR-C (análise de fragmentos) e os Resultados validados por RQ-PCR (real time PCR). Uma subcoorte de 232 pacientes provenientes de duas instituições (HUAP-UFF e HUPE-UERJ) foi caracterizada molecularmente sendo composta de 36 pacientes PV (15%), 90 TE (39%), 23 MF (10%) e 83 em revisão do diagnóstico (36%). Destes, 89% dos PV, 49% dos TE e 61% das MF são portadores da mutação em V617F e o acompanhamento trimestral da carga alélica mostrou 3 subgrupos quando os dados foram analisados em quartis: um grupo com carga alélica abaixo dos 15%, outro acima dos 90% e outro com flutuações no 2º e 3º quartis. Os pacientes V617F negativos foram pesquisados para alterações em *MPL* e nos éxons 12 e 14 de *JAK2*. No éxon 10 de *MPL* não foram identificadas mutações. O éxon 12 de *JAK2* revelou o polimorfismo intrônico rs7869668 não associado à doença na nossa coorte. Identificamos ainda 7 pacientes, sendo 6 deles mulheres, com quadro de leucemização, dos quais em 5 buscou-se associação entre a amostra pré e pós leucemização com a presença de mutações nos marcadores *IDH1/2* e *TET2* associados à progressão leucêmica. Os Resultados obtidos foram 2 pacientes portadores da mutação V617F na amostra pré e pós leucêmica e um paciente V617F negativo sendo portadores da mutação p.Pro363Leu no éxon 3 de *TET2* nas amostras pré e pós leucêmica. Estes Resultados mostraram que não foi possível correlacionar uma única mutação ao estado de leucemização e por isso pretende-se buscar alterações adicionais nestas amostras por técnicas genômicas globais.

0396

Expressão diferencial de genes responsáveis pela insensibilidade de células CD34+ aos inibidores de quinase em pacientes portadores de leucemia mielóide crônica

Moreira-Nunes CF^{1,2}, Azevedo TC³, Beltrão AC³, Francês LT², Sousa RG⁴, Silva IT⁴, Silva A¹, Silva-Jr WA⁴, Lemos JA^{1,2}

¹ Universidade Federal do Pará – UFPA, Belém, PA

² Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – Hemopa, Belém, PA

³ Hospital Ophir Loyola, Belém, PA

⁴ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Introdução: A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença caracterizada pela formação da fusão *BCR-ABL* que codifica a oncoproteína p210, que tem atividade tirosina-quinase. O mesilato de imatinib (MI) é um inibidor de transdução de sinal que age especificamente na p210. Em 2005, Michor *et al*, através de modelo matemático, concluíram que o MI reduz a população de células leucêmicas diferenciadas com eficiência, porém não tem o mesmo efeito sobre a população celular que dirige esta doença, as células leucêmicas CD34⁺/CD33⁺, que continuam vivas durante o tratamento. A busca das causas primárias de resistência ao MI se intensificou nos últimos anos, com um foco especial sobre o possível papel dos transportadores de drogas. O problema pode ser devido a qualquer defeito de captação da droga para dentro da célula (influxo) ou o bombeamento excessivo para fora da célula (efluxo). **Objetivos:** Identificar os genes expressos em células CD34⁺ e CD66b⁺ como candidatos para o transporte de inibidores de quinase. **Métodos:** Amostras de medula óssea (MO) e do sangue periférico (SP) foram obtidos de 5 pacientes com LMC tratados com MI em resposta ótima, de acordo com os critérios do *LeukemiaNet*, e 1 paciente controle. Células CD34⁺ foram isoladas da MO dos pacientes e do controle. Da mesma forma, células maduras (CD66b⁺) do SP foram isoladas. O RNA obtido dos pacientes foi misturado para a obtenção de um *pool*. As amostras foram sequenciadas na plataforma *SOLiD System 3 plus (Life Technologies)* de acordo com protocolos do fabricante do *kit SOLiD Total RNA-Seq kit for whole transcriptome*. Para caracterizar as classes de genes de transporte, utilizamos a anotação baseada na *Gene Ontology*, e o *software Cufflinks* foi utilizado para identificar a expressão diferencial de genes, nas amostras comparadas (MO x SP) de pacientes e controle. Para a definição da diferença de expressão dos genes comparados entre as amostras testadas, foram considerados genes diferencialmente expressos aqueles que apresentaram $p \leq 0,05$. **Resultados:** Na amostra de pacientes foi possível identificar os genes *OCT-1* – nas duas amostras de SP e MO, sem nenhuma diferença significativa ($p \leq 0,05$) – e *OATP1A2* – apenas na amostra de SP. Porém, sua presença não foi observada em nenhuma das amostras do grupo controle, o que reforça dados descritos na literatura que indicam que esses canais são verdadeiramente responsáveis pelo influxo do MI nas células dos pacientes em tratamento. A presença dos genes *ABCB1;ABCG2;ABCC1*, descritos amplamente na literatura como responsáveis pelo efluxo do MI das células, foram encontradas apenas nas amostras de MO dos pacientes. A presença de outros dois genes responsáveis pelo efluxo de drogas, *SLC47A1(MATE1)* e *SLC47A2(MATE2)*, foi também encontrado exclusivamente na amostra de MO dos pacientes. Estes genes conhecidos como *Human multidrug and toxin extrusion (MATE)* também tem sido identificados como mecanismos importantes do efluxo de diversas drogas. **Conclusão:** A maior presença de canais de influxo, *OCT-1* e *OATP1A2*, nas células maduras (CD66b⁺) e ausência de canais de efluxo-*ABCB1;ABCG2;ABCC1* e genes *MATE* – e o inverso nas células-tronco dos pacientes analisados nesse estudo, pode ser a resposta do porquê da insensibilidade das células CD34⁺ ao tratamento com MI e consequente não eliminação da doença residual mínima.

0397

Hipertensão porta e varizes de esôfago secundárias a mielofibrose primária: relato de um caso

Lima MM, Santos FN, Bautzer VR, Macedo EM, Oliveira EA, Helman R, Souza CL, Rodrigues M, Hamerschlak N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Mielofibrose primária é uma doença hematológica maligna crônica caracterizada por esplenomegalia, proliferação hematopoiética de natureza clonal, podendo apresentar vários graus de fibrose medular e hematopoiese extramedular. Atinge principalmente os indivíduos na sexta década de vida ou mais. A hematopoiese extramedular pode causar ascite, hipertensão pulmonar e portal, obstrução intestinal e ureteral ou tamponamento pericárdico. Mecanismos exatos que levam à hipertensão porta na mielofibrose ainda são controversos. Na ausência de trombose na circulação porta, propõem-se duas teorias: estreitamento e obstrução sinusoidal intra-hepática causada por hematopoiese extramedular ou devido ao aumento do fluxo sanguíneo portal através do aumento do baço. O diagnóstico de tal complicação, a maioria das vezes, é dado mediante o aparecimento de sintomas graves, tal como hemorragia digestiva alta. A seguir, relatamos um caso de mielofibrose que foi diagnosticado hipertensão portal após um quadro grave de hematêmese. Paciente de 71 anos, portadora de mielofibrose diagnosticada há 3 anos. Atualmente em fase crônica da doença, DIPSS-plus alto risco, em uso de androgênios como quarta linha de tratamento, hepatoesplenomegalia volumosa ao exame físico. Apresentou episódio inédito de melena cursando também com hematêmese volumosa e choque hemorrágico. Instituído terapêutica imediata com ressuscitação volêmica associada a análogo de somatostatina com boa resposta e cessação espontânea do sangramento. No exame endoscópico do trato digestivo alto apresentava varizes de esôfago (2 de médio e 2 de fino calibre), tortuosas, com sinais de cor vermelhas (+/4+) em terço médio distal e ainda gastropatia congestiva. O doppler do sistema porta confirmou fígado e baços com dimensões aumentadas, além de fluxo hepatopetal, configurando sinais de hepatopatia com hipertensão portal. Paciente evoluiu ainda com ascite de moderado volume e necessidade de paracentese. Foi instituído profilaxia para sangramento com beta-bloqueadores. Em Conclusão, pacientes com mielofibrose podem desenvolver hipertensão portal. Mecanismos exatos ainda são controversos. A apresentação clínica é semelhante a outras etiologias de hipertensão portal, como sangramento de varizes esofágicas e ascite, sendo estas, as apresentações mais comuns. A anemia pode correlacionar com, e prever a gravidade da hipertensão porta nestes pacientes. O tratamento baseia-se na ligadura das varizes de esôfago, controle da ascite e em casos refratários, a realização de TIPS (shunt transjugular intra-hepática portossistêmica) pode ser necessária. Esse quadro figura entre as principais causas de morte em portadores dessa doença, sendo necessário atenção a evolução de tal complicação, evitando assim o aumento da morbimortalidade desse grupo de doentes.

0398

Importância da investigação da mutação JAK2V617F para o diagnóstico de neoplasia mieloproliferativa BCR/ABL negativa

Reis ML, Barcelos MM, Costa DC, Gaspar PC, Moraes AC, Del-Moral JA, Rudolf-Oliveira RC, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

Introdução: As neoplasias mieloproliferativas (NMPs) são originadas a partir de uma proliferação clonal em um progenitor hematopoiético pluripotencial. Dentre as NMPs, a policitemia vera (PV), a

trombocitemia essencial (TE) e a mielofibrose primária (MFP), compreendem o grupo das NMPs *BCR/ABL* negativas. De acordo com os critérios adotados para o diagnóstico das NMPs, realizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2008, a expressão da mutação *JAK2 V617F* é considerada como critério de maior importância para o diagnóstico de PV, TE e MFP. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a importância da investigação da mutação *JAK2 V617F* para o diagnóstico diferencial de PV, TE e MFP. **Métodos:** Foram encaminhadas ao Laboratório de Oncologia Experimental e Hemopatias da UFSC, para a análise de presença da mutação *JAK2 V617F*, 311 amostras de sangue periférico de pacientes com suspeita clínica de NMP. A investigação da mutação *JAK2 V617F* foi realizada pela reação em cadeia da polimerase-alelo específico (PCR-alelo específico). Os dados laboratoriais e clínicos foram obtidos a partir de consulta nos prontuários dos pacientes. **Resultados e Discussão:** Do total de amostras analisadas, apenas 68 tiveram o diagnóstico confirmado como NMP. Destes, 35 (51,5%) eram do gênero masculino e 33 (48,5%) do feminino; 43 (63,2%) apresentaram a mutação *JAK2 V617F* e 25 (36,8%) foram negativos para a mutação. A mediana de idade dos pacientes que apresentaram a mutação *JAK2 V617F* foi de 61 anos, enquanto a dos pacientes sem a mutação foi inferior (52 anos). A neoplasia de maior prevalência foi a TE, compreendendo 38 dos casos (55,9%), seguida da PV com 20 dos casos (29,4%). Do total de casos de PV, TE e MFP, 15 (75,0%), 22 (57,9%) e 6 (60,0%) foram *JAK2 V617F* positivos, respectivamente. Quando as NMPs foram consideradas como um único grupo, não foi encontrada associação entre a presença da mutação *JAK2 V617F* e o gênero ou a idade dos pacientes. Também não foi observada relação entre a mutação nas NMPs e a ocorrência de trombose e/ou esplenomegalia. Já quando as amostras foram divididas em grupos segundo o seu diagnóstico, os pacientes diagnosticados com PV e TE apresentaram relação entre a presença da mutação *JAK2 V617F* e o aumento da contagem de eritrócitos e plaquetas, e o aumento na mediana de idade e leucocitose, respectivamente. No entanto, os indivíduos com diagnóstico de MFP não apresentaram associação entre a presença de *JAK2 V617F* e a ocorrência de alterações laboratoriais. Estudos internacionais relatam que mais de 90% das PVs e cerca de 50% das TEs e MFPs são positivas para *JAK2 V617F*. Os dados desta investigação demonstraram que, na população estudada, os pacientes diagnosticados com PV possuem menor incidência da mutação *JAK2 V617F* do que o relatado na literatura. No entanto, a presença da *JAK2 V617F* na TE e na MFP nesse estudo foi maior do que o encontrado em outros trabalhos. **Conclusão:** Esses achados ressaltam que há diferenças regionais na frequência da mutação *JAK2 V617F* e que é importante conhecer esses dados, uma vez que eles interferem diretamente na capacidade de realizar o diagnóstico diferencial das NMP. **Apoio financeiro:** Fundação de Apoio à Pesquisa e Tecnologia do Estado de Santa Catarina-FAPESC e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq.

0399

The relationship between the regulation of TOB1 gene with cell proliferation, apoptosis and cell cycle in BCR-ABL positive cellsMascarenhas CD¹, Cunha AF², Brugnerotto AF¹, Gambero S¹, Machado-Neto JA¹, Duarte AS¹, Pagnano KB¹, Costa FF¹, Souza CA¹¹ Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP² Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP

The TOB1 gene is a transcription factor responsible for the transduction of the gene ERBB2. The TOB1 gene presents a decreased expression in several types of cancer such as lung, breast, thyroid and stomach cancer. Aiming to evaluate the inhibition of gene TOB1 into *BCR-ABL* positive cells and trying to elucidate the molecular mechanisms associated with the inhibition of this gene in the CML we pro-

ceeded to a more detailed study of this gene. The inhibition of this gene in K562 cells was performed using specific lentivirus. The effect of silencing TOB1 in the proliferation of K562 cells was assessed by the MTT assay after 48h of culture; in shTOB1 the proliferation was increased in comparison with shCtrl cells. To evaluate the synergistic effect between the inhibition of kinase tyrosine activity of *BCR-ABL* and the inhibition of TOB1 we performed a treatment with different concentrations of imatinib (0.1, 0.5 and 1 μ M), but we observed the decrease in cell proliferation of shTOB1 cells to similar levels of shCtrl cells only at the 1 μ M concentration. Therefore, the TOB1 silencing increased the proliferation of K562 cells without an additional effect of a treatment with Imatinib. To analyze the clonogenicity, we performed a formation of colonies assay, in methylcellulose, to determine whether silencing TOB1 could cause a change in the clonal growth of positive *BCR-ABL* cells. There was no significant change in the number of colonies that grew in cell culture shTOB1 compared to shCtrl cells. These results suggest that silencing TOB1 in K562 cells may not change the clonogenicity. In the assessment of cell cycle, the flow cytometry analysis revealed a significant accumulation of K562 cells in S phase, with consequent reduction of cells in the G2 phase of the cell cycle in cells shTOB1 compared to cells shCtrl. The TOB1 gene silencing in K562 cells kept the cells in the S phase and prevented the entry of cells in the G2 phase showing that the inhibition of gene TOB1 induced an increase in proliferation of K562 *BCR-ABL* cells. The level of apoptosis was assessed by flow cytometry after labeling the cells with annexin-V/PI. The Imatinib treatment presented dose-response in the induction of apoptosis as expected. However, a cumulative effect with TOB1 silencing was not observed. Furthermore, the apoptosis was also assessed by assays of caspases 3, 8 and 9, which showed an increase of the caspase activity of shControl cells in relation of the shTOB1 cells, showing that inhibition of this gene also changes the level of apoptosis. These results corroborate the literature data that report the relationship of this tumour suppressor gene in signalling pathways related to angiogenesis, carcinogenesis, apoptosis and metastasis. When we relate the results obtained with the LMC, we can consider the possibility of TOB1 regulation changes be related to modification of important signalling pathways. From this work we can infer that in CML the expression of this gene is transformed, resulting in changing of the capacity of induction of apoptosis, decrease tumour necrosis and increase cell proliferation.

0400

Microna expression profile in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors

Scholl V¹, Bonecker S¹, Hassan R², Zalberg I¹

¹ Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea - CEMO, Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Laboratório de Oncovirologia, Centro de Transplante de Medula Óssea - CEMO, Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introduction of tyrosine kinase inhibitors (TKI) dramatically modify the treatment of chronic myeloid leukemia (CML). However, resistance to ITK is an increasing problem, affecting 35% of patients with CML in chronic-phase (CP). Mutations in the kinase domain (KD) of *BCR-ABL* is the most common mechanism involved with resistance, nevertheless, they are present in 30-60% of resistant patients. MicroRNAs (miRNAs) are small RNAs which regulate gene expression that have recently emerged as an important mechanism of cancer physiology. In CML, miRNA expression has not been fully described in the resistance setting of the disease. The aim of this study was to analyze the miRNA expression profile in CML-CP patients with different response patterns to imatinib (IM) therapy, to identify putative miRNAs related to response and/

or resistance to ITKs. For this, a retrospective study of 17 patients classified according to the European *LeukemiaNet* response criteria was performed. Ten patients were characterized as optimal IM-Responders (complete cytogenetic response, CCyR, within 12 months of IM 400 mg/day) and 7 as IM-Resistant patients (100% Ph+ at 6 months of IM therapy or >35% Ph+ after 12 months of IM). Any IM-Resistant patient showed KD mutations by direct sequencing. In addition to the diagnostic samples, 8 sequential samples of 4 IM-Resistant patients collected during TKI treatment were studied. MiRNA expression of 5 healthy-donors was used as control. MiRNAs expression profile was performed using the *TaqMan* Low Density Array (TLDA) methodology (Applied), and statistical analysis with GenEx Enterprise (MultiD). We identified 4 miRNAs differentially expressed at diagnosis compared groups of patients who respond to IM vs. IM-resistant: miR-155, miR-451, miR-18b and miR-125-5p ($p = 0,0014$; $0,001$; $0,005$ and $3,4E-5$, t-test-2-tails). A group of 29 miRNAs showed a similar expression variation pattern during TKI treatment, inverse correlated with tumor burden as measured by levels of *BCR-ABL* transcript: low expression at diagnosis, up-regulation at response and down-regulation of expression in a non-response or relapse status. Some of those miRNAs are: miR-103, miR-135b, miR-140-5p, miR-142-5p, miR-146a, miR-148a, miR-150, miR-21, miR-29b, miR-335, miR-342-3p, miR-451, miR-618, miR-708 and miR-95. All together, our data reinforce that different patterns of miRNA expression are related to the mechanisms underlying TKI therapy resistance in CML, and point to a better comprehension of the dynamics of these small RNAs expression during TKI treatment. In the short-time planning, we are working to confirm these data in samples of an independent cohort of CML patients.

0401

Resposta molecular maior: relação com a manutenção da resposta citogenética completa e obtenção da resposta molecular completa

Scholl V¹, Bonecker S¹, Cappelletti PA¹, Moellmann A², Dobbin J², Rocha M³, Zalberg I¹

¹ Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea - CEMO, Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Serviço de Hematologia, Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Laboratório de Citogenética, CEMO, Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: Atingir uma resposta citogenética completa (RCgC), ou seja, ausência de cromossomo *Philadelphia* pela técnica de Bandeamento G, aos 12 meses e/ou uma resposta molecular maior (RMM) (=0,1% de *BCR-ABL/ABL*) em até 18 meses de tratamento com Imatinibe (IM), tem sido associado com um melhor desfecho clínico em pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC). Ainda não está claro se a velocidade com a qual uma resposta é alcançada se traduz em uma vantagem clínica futura. O alcance da RCgC é um dos pilares preditivos da resposta ao tratamento com inibidores de tirosina quinase (ITK). A obtenção da RMM tem sido amplamente descrita como um importante *endpoint* associado à manutenção da RCgC. A rapidez na obtenção da RMM correlaciona-se com uma maior probabilidade de alcançar uma resposta molecular completa (RMC) (= valor indetectável do transcrito *BCR-ABL* pela técnica de qRT-PCR). Alcançar uma RMC poderia ser considerado o *endpoint* ideal, já que a RMC foi associado a respostas mais duradouras. Mais ainda, a perspectiva de alcançar uma RMC é importante frente à possibilidade de suspender o IM em pacientes que apresentam uma RMC estável. **Objetivo:** avaliar a estabilidade da RMM e sua relação com a manutenção da RCgC e a obtenção da RMC em um grupo de

pacientes com LMC tratados com ITKs. **Métodos:** A obtenção da RCgC e RMM foi analisada em um grupo de 116 pacientes com LMC do INCA que apresentaram RCgC e tiveram dados disponíveis da resposta molecular. **Resultados:** 85% casos apresentaram RCgC+RMM e 15% casos RCgC sem RMM. A probabilidade de perda da RCgC de acordo ao tempo mostrou uma diferença significativa entre os grupos ($p = 0,0001$, teste *log-rank*). Pacientes com RCgC sem RMM mostraram perda precoce da RCgC, comparado com o grupo RCgC+RMM, em que a perda foi verificada mais tardiamente. Nenhum dos casos que apresentou RCgC+RMC perdeu a resposta obtida após um tempo médio de acompanhamento de 9 meses (5-45 meses). A redução da carga tumoral em até 2-logs (valores $\leq 1\%$ *BCR-ABL*^{El} vs. valores $>1\%$ *BCR-ABL*^{El}) foi analisada aos 3 e aos 6 meses do início do tratamento com IM. A redução de até $\leq 1\%$ *BCR-ABL*^{El} aos 3 e/ou aos 6 meses foi relacionada com uma maior probabilidade de alcançar uma RMM em um tempo de até 18 meses de uso do ITK ($p = 0,004$ e $p = 0,017$, respectivamente). A probabilidade de obter uma RMM até 18 meses foi de 100% vs 85% para os pacientes com redução de >2 e ≤ 2 -log de *BCR-ABL*^{El} aos 3 meses, e de 96% e 62,5% aos 6 meses, respectivamente. A probabilidade de alcançar RMC foi maior para os pacientes que apresentaram uma RMM aos 12 meses de tratamento comparado com aqueles com valores $>0,1\%$ *BCR-ABL*^{El} aos 12 meses (100% vs 58%, $p = 0,001$). A probabilidade de obter uma RMC em qualquer tempo foi 4,8 vezes maior (Hazard ratio) nos casos que apresentaram uma RMM durante os primeiros 12 meses de tratamento com IM ($p = 0,002$, IC95% 1,7-13,3). **Conclusões:** Nossos Resultados mostram uma probabilidade menor de perder a RCgC quando associada com uma RMM, na nossa série, 0% dos casos que apresentaram RCgC+RMC perdeu a resposta citogenética obtida. A rapidez de redução da carga tumoral foi relacionada com a obtenção de uma RMM em até 18 meses de IM e de atingir também uma RMC.

0402

Recida em sistema nervoso central em um paciente com leucemia mieloide crônica PH+ tratado com dasatinibe

Corrêa TN, Athayde MS, Araújo CA, Hugo CP, Romani GH, Murao M, Mascarenhas RF, Clementino NC

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

Introdução: O envolvimento do sistema nervoso central (SNC) é uma complicação relativamente comum na leucemia linfóide aguda Ph+ (LLA Ph+) e na crise blástica da leucemia mieloide crônica (LMC-CB). Imatinibe é um potente e seletivo inibidor da tirosina quinase *BCR-ABL* e emergiu como tratamento de escolha nos pacientes com LMC em fase crônica, com demonstração de atividade também nas fases acelerada e blástica, e com seu uso houve redução drástica do número de casos que evoluem para crise blástica. Contudo, há pobre penetração da droga ou seus metabólitos ativos no SNC. Dasatinibe, um inibidor das tirosina quinases SRC e *BCR-ABL* de segunda geração, mostrou atividade significativa em adultos com LMC resistentes ou intolerantes ao imatinibe, sendo que um relato de caso recente sugeriu regressão de LMC Ph+ no SNC após terapia com dasatinibe.

Métodos: relatar o caso de um paciente com LMC, em uso de dasatinibe devido a crise blástica mieloide, com crise blástica mieloide isolada em SNC. **Resultados:** CAS, 57 anos, com diagnóstico de LMC Ph+ no RJ desde março/2010, tendo iniciado tratamento com imatinibe. Apesar do tratamento, evoluiu para crise blástica mieloide em outubro/2010, sendo iniciado dasatinibe 140mg. Veio transferido para o serviço de Hematologia do HC-UFMG já com este diagnóstico e em tratamento. Estava em remissão

hematológica, citogenética e molecular. Admitido no PA/HC em 18/06/2012 com queixas inespecíficas de cefaleia, mal estar, inapetência e redução da acuidade visual em olho esquerdo. Já tinha comparecido ao PA algumas vezes com as mesmas queixas, sendo liberado com sintomáticos, e em uma das consultas foi feito tratamento para sinusite, sem melhora do quadro. Exame físico sem alterações. Realizou tomografia de crânio e órbita, além de exames laboratoriais, todos sem alterações. Avaliação da Oftalmologia revelou alteração na retina esquerda. Optado por realizar punção líquórica para definição diagnóstica, com resultado demonstrando: glicose 56,1; proteínas totais 81,2; citometria: células nucleadas 2500; citologia: linfócitos 1% basófilos 27% blastos 72%. Imunofenotipagem do líquor: infiltração por células imaturas da linhagem mieloide. Iniciado tratamento com MADIT seriado. Mielograma hipocelular, não evidenciando infiltração e sem crescimento de metáfases para análise do cariótipo. Depois do tratamento com MADIT, encaminhado para radioterapia. Foi mantido tratamento com o dasatinibe, mas optado por não iniciar QT sistêmica associada ao tratamento do SNC. **Discussão:** com o uso do imatinibe, a progressão para fases avançadas da LMC e crise blástica reduziram para 1% a 1,5% por ano comparados com mais de 20% por ano na era pré-imatinibe. A recidiva isolada em SNC pode ocorrer apesar das respostas completas em sangue periférico e medula óssea e podem ser atribuídas à pobre penetração do imatinibe no líquor. A extensão na qual a penetração do dasatinibe versus imatinibe pela barreira hematoencefálica é responsável pelos efeitos anti-tumorais aparentemente superiores do dasatinibe é incerta; contudo é possível que vários fatores estejam envolvidos. O dasatinibe tem potencial terapêutico promissor no manejo da leucemia no SNC, entretanto, contínua e prolongada administração deste agente pode ser necessária para efetivamente controlar a LMC intracraniana.

0403

Perfil clínico e laboratorial de pacientes com trombocitemia essencial acompanhados em clínica privada

Mauad VA¹, Poblete NC¹, Prince MF¹, Kanaguchi G¹, Savioli ML¹, Vieira FC¹, Silva IV¹, Amaro NS¹, Bassit RP^{1,2}, Borduchi DM^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP

² Central Clinic

Introdução: A trombocitemia essencial é uma patologia mieloproliferativa crônica que tipicamente cursa com plaquetose persistente e hiperplasia do setor megacariocítico MATERIAL E METODOS: Trata-se de um estudo retrospectivo, realizado através do levantamento de prontuário de 36 pacientes com diagnóstico trombocitemia essencial em serviço particular de hematologia da região do ABC, desses, 13 possuíam pesquisa de mutações *JAK2*, *BCR-ABL* com resultado já computado em prontuário, sendo esses os incluídos no estudo **Resultados:** Dos 13 pacientes estudados, 10 eram do sexo feminino. A mediana de idade era de 57,5 anos, variando entre 15 e 77 anos. Foi observada mutação V617F no gene *JAK-2* em 7 desses pacientes, sendo um em heterozigose (54% aproximadamente), esse grupo apresentou valores médios de plaquetas em níveis inferiores aos pacientes *JAK-2* WT, no exame de diagnóstico (valor médio 568700 contra 1000334 no grupo *JAK-2* WT, $p > 0,05$), não houve diferenças significativas nos demais índices hemantimétricos (He, Ht, Hb, Lt), a presença da mutação também se relaciona à menores doses de hidroxiureia necessária para estabilização da plaquetose ($Pqt \leq 450000$). **Conclusão:** Nos dados observados nessa amostra, a mutação V617F em *JAK-2* se relacionou à menores plaquetoses, ainda que não se configurem em valores estatisticamente significantes pelo n restrito, e mais fácil estabilização clínica com hidroxiureia.

0404

Progressão trombocitemia essencial para mielofibrose e leucemia aguda: relato de casoMauad VA¹, Bordim RA¹, Prince MF¹, Vieira J¹, Vieira FC¹, Silva IV¹, Amaro NS¹, Bassit RP^{1,2}, Borduchi DM^{1,2}¹ Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP² Central Clinic

A trombocitemia essencial (TE) é uma doença mieloproliferativa crônica que evolui com trombocitose e fenômenos hemorrágicos e/ou trombóticos. O controle é baseado no uso de inibidores da tromboopoiese como anagrelide ou hidroxiuréia e antiagregantes. Há possibilidade da contribuição destas medicações na progressão da TE para outras doenças clonais. Relatamos o caso de um paciente acompanhado em serviço particular onde verificou-se evolução de trombocitemia essencial para mielofibrose e, posteriormente, para leucemia mielóide aguda (LMA). Paciente masculino, 61 anos, iniciou seguimento já com diagnóstico de trombocitemia essencial e em uso de hidroxiuréia, com dose de 2000 mg e 1500 mg em dias alternados, mantendo plaquetose em níveis de 600.000 plaquetas. A reavaliação com biópsia medular revelou fibrose estromal G III com discreta hiperplasia megacariocítica em fevereiro de 2002. Evoluiu com aneurisma poplíteo e elevação de plaquetas para até níveis de 833000 pqt/mm³, tendo sido então introduzido anagrelide 1,0 mg por dia em março 2012. Como houve maior elevação dos níveis plaquetários, associou-se hidroxiuréia 1500 mg por dia. O tratamento com anagrelide foi interrompido em junho de 2012, hemograma na ocasião revelava Lt=8750 com 9% de blastos. Em 03/07/2012, compareceu em consulta com novo hemograma revelando He Hb 11,1 Pqt 486000, INR 6,70 Lt=10910 com 25,9% de blastos, sendo internado onde confirmada LMA. A doença progrediu rapidamente e paciente evoluiu para óbito no D6 da indução. A TE é uma doença cuja mortalidade é similar à da população normal. Há casos que progridem para mielofibrose e, raramente, para LMA. Não se pode descartar o papel do tratamento com hidroxiuréia ou anagrelide apesar delas serem o tratamento mais adequado para a TE.

0405

Trombocitemia essencial em paciente jovem com mutação em Jak-2 heterozigoto: relato de casoMauad VA¹, Poblete NC¹, Vieira J¹, Vieira FC¹, Silva IV¹, Amaro NS¹, Prince MF¹, Bassit RP^{1,2}, Borduchi DM^{1,2}¹ Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP² Central Clinic

Introdução: Trombocitemia essencial (TE) é uma doença mieloproliferativa crônica clonal, que envolve, principalmente, a serie megacariocítica. É caracterizada por plaquetoses sustentadas em sangue periférico e aumento do número de megacariócitos na medula óssea. Clinicamente observamos episódios trombóticos e/ou hemorrágicos. A maioria dos casos é diagnosticada em torno dos 50 e 60 anos e a ocorrência em crianças, embora descrita, é rara. **Objetivos:** Relatar o caso de um paciente abordado em serviço particular em Santo André, onde foi diagnosticado com trombocitemia essencial aos 15 anos de idade. **Resultados:** Paciente masculino, 15 anos, da entrada no serviço por trombocitose, verificada em exame de rotina em 2011. No exame adimensional no serviço apresentou Hb 18,2, Lt=8830, Pqt=716000. Exame físico sem alterações, sorologias para hepatite B, C e HIV negativas e perfil de ferro dentro da normalidade, assim como as provas de atividade inflamatórias. Realizada pesquisa de mutação JAK-2 e observada presença da mutação V617F no gene JAK-2, em heterozigose; a

pesquisa de *BCR-ABL* resultou negativa. BMO: medula hiperplásica com hiperplasia granulocítica e 90% de celularidade. Cariótipo normal. Foi optado pela introdução de hidroxiuréia 500 mg/dia, com redução dos níveis plaquetários para 560000. Paciente continua acompanhamento do quadro no serviço visando controle dos índices hemantimétricos. **Conclusão:** Embora a TE seja rara nesta faixa etária, devemos incluí-la dentre os diagnósticos diferenciais de trombocitose independentemente da idade.

0406

Ocular side effects of imatinib in patients with chronic myeloid leukemiaAbe R¹, Lira RP¹, Arieta CE¹, Lorand-Metze IG², Delamain MT², Duarte GO², Souza CA², Pagnano KB²¹ Departamento de Oftalmologia, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP² Centro de Hemoterapia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Imatinib is a selective inhibitor of the *bcr-abl*, *c-kit*, and platelet-derived growth factor receptor tyrosine kinases. According to the World Health Organization classification, the existence of a causal relationship between imatinib and the ocular side effects reported to date is considered certain in the case of periorbital edema; probable for epiphora; possible for extra ocular muscle palsy, ptosis, and blepharoconjunctivitis; and unlikely for glaucoma, papilledema, retinal haemorrhage, photosensitivity, abnormal vision, and increased intraocular pressure. The aim of this study is to describe ocular side effects in patients with chronic myeloid leukemia (CML) treated with Imatinib **Methods:** in this interventional, prospective, non-comparative case series study, patients with CML in chronic phase were enrolled. Patients were included before starting treatment with imatinib. Exclusion criteria consisted of any ocular pathology (except from refractive error). Patients were examined 3 times (baseline before medication, 3 months and 6 months after starting medication). The same investigator performed all examinations. All patients underwent complete ophthalmological examination, including Snellen best-corrected visual acuity (BCVA) testing, intraocular pressure (IOP) measured with an applanation tonometer, slit-lamp examination, and dilated fundus examination with 78D lens. Retinographies were taken with Heidelberg Retina Tomograph II. A questionnaire was used to graduate overall symptoms (eyelid swelling, tearing, redness, foreign body sensation, photophobia and abnormal vision) and signs (peri orbital oedema, lacrimal meniscus, conjunctival hyperemia, chemosis, ptosis extra ocular muscle paresis, retinal haemorrhage and papilledema). Grades range from 0 (Absent), 1 (Mild), 2 (Moderate) and 3 (Severe). **Results:** From April 2011 to July 2012 a total of 17 patients were enrolled and 13 were evaluated until month 6. Eight were male and 5 female, with mean age, 50 +/- 13 years). At baseline 1 patient presented diffuse retinal haemorrhage (Roths spots), with complete regression of the lesion after 3 months of treatment. The majority of the patients complained about moderate overall symptoms at 3 months evaluation (Table 1). Eyelid swelling and tearing were the most prevalent symptoms in both examinations. The majority of the patients persisted with the same grade of eyelid swelling (7 in 13), getting worse in only 3 patients. 7 in 13 patients persisted with the same grade of tearing, but 5 in 13 presented improvement. At physical examinations the majority of the patients presented mild alterations (palpebral edema, lacrimal meniscus, conjunctival hyperemia and chemosis) and persisted with the same grade in both evaluations. No ptosis or extra ocular muscle palsy was observed. At 3 months evaluation, mean IOP of right eye was 12,46 (+/-2,18) and 12,92 (+/-2,6) on left eye. At 6 months evaluation, mean IOP of right eye was 11,77 (+/-1,30) and 11,85 (+/-1,21) on left eye. This variation was not statistically sig-

nificativa. **Conclusion:** Our study corroborates the findings in previous studies, with eyelid swelling, tearing, palpebral edema and increase on lacrimal meniscus being the most prevalent signs and symptoms detected during imatinib therapy. Since most of them persisted with the same grade at 6 months, a longer follow up of the patients is required.

0407

Avaliação da resposta molecular em pacientes com leucemia mielóide crônica tratados com dasatinibe após falha ou intolerância ao imatinibe

Ribeiro BF, Lorand-Metze IG, Miranda EC, Vergilio B, Delamain MT, Souza CA, Duarte GO, Albuquerque DM, Santos AD, Tavares A, Pagnano KB

Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Os inibidores de segunda geração são eficazes em pacientes com LMC com falha ao imatinibe, induzindo resposta citogenética completa (RCC) em cerca de metade dos pacientes em fase crônica (FC). O objetivo desse trabalho foi avaliar o valor preditivo das respostas moleculares observadas após a introdução do dasatinibe na obtenção de resposta citogenética e molecular. **Métodos:** entre 2008 e 2012 foram avaliados 55 pacientes consecutivos com LMC, tratados com dasatinibe em segunda ou terceira linha de tratamento após falha ou intolerância ao imatinibe. Os transcritos *BCR-ABL* foram avaliados através de RT-PCR quantitativo (RQ-PCR) pré dasatinibe e a cada 3 meses. Os Resultados foram expressos como razão *BCR-ABL/ABL* em % com os valores corrigidos para a escala internacional. Resposta molecular maior (RMM) foi definida como transcritos $\leq 0,1\%$. Análise citogenética foi realizada aos 3, 6, 12 e 18 meses após início do dasatinibe. Pesquisa de mutação do *BCR-ABL* por sequenciamento direto foi realizada nos casos resistentes ao imatinibe e com critérios de falha ao dasatinibe. As curvas de sobrevida global (SG), livre de progressão (SLP) e livre de evento (SLE) foram calculadas a partir do início do dasatinibe usando o método de Kaplan-Meier. Para SLP foi considerado evento a progressão para fase acelerada (FA) ou crise blástica (CB) e óbito, enquanto para SLE, além destes eventos, também se considerou perda de resposta hematológica (RHC), perda da RCC, e descontinuação do dasatinibe. As probabilidades de RCC de acordo com a resposta molecular aos 3 e 6 meses foram calculadas através do método de χ^2 e incidência cumulativa. **Resultados:** foram avaliados 55 pacientes; 33 (60%) do sexo masculino, mediana de idade 48 anos (15-81). Treze (24%) haviam obtido RCC prévia com imatinibe. Fase da doença ao início do dasatinibe: 32 (58%) FC, 13 (24%) FA e 10 (18%) CB; 47/54 (87%) obtiveram RHC, 20/36 (55%) obtiveram RCC e 17/44 (38%) RMM. Aos 3 meses 67% (25/37) apresentaram RQ-PCR $\leq 10\%$, aos 6 meses 48% (14/29) RQ-PCR $\leq 1\%$, aos 12 meses 27% (6/22) RQ-PCR $\leq 0,1\%$. Pacientes com RQ-PCR $>10\%$ aos 3 meses tiveram menor chance de obter RCC (12%) e RMM (8%) com $p=0,001$ e $p=0,005$. Os pacientes com RQ-PCR $>1\%$ aos 6 meses tiveram menor chance de obter RCC ($p=0,004$). Pacientes com PCR $>10\%$ aos 3 meses e $>1\%$ aos 6 meses apresentaram menor SLE (25% vs 48%, $P=0,20$; 46% vs 74%, $p=0,12$ respectivamente). Durante o tratamento 9/55 evoluíram para CB. A SG avaliada durante o tratamento com dasatinibe foi de 83% (95%IC: 71-95%), sendo inferior nos pacientes em CB. A SLP em 48 meses foi de 70% (95%IC: 56-84%), sendo 88%, 76% e 11% nas fases FC, FA e CB respectivamente ($p<0,0001$); a SLE em 48 meses foi de 29% (95%IC: 21-37%), 36%, 32% e 10% nas FC, FA e CB ($p<0,0001$). O tratamento com dasatinibe foi descontinuado em 26/55 pacientes por resistência (12), óbito (8), intolerância (5) e transplante de medula óssea alogênico (1). Foram detectadas 13 mutações do *BCR-ABL* em 38 casos, duas pré tratamento (L387M e M351T) e 11 após (T315I-6, M244V-2,

E255V-1, E499E-1, M351T-1). **Conclusões:** as respostas ao tratamento com dasatinibe são superiores FC. Os pacientes com menor chance de obter RCC podem ser identificados precocemente através do monitoramento molecular nos primeiros meses de terapia. Na resistência a mutação mais frequente foi a T315I.

0408

Irmãs com trombocitemia essencial e fenômenos trombóticos prévios: relato de caso

Poblete NC¹, Kanaguchi G¹, Boldrim RA¹, Vieira J¹, Mauad VA¹, Silva IV¹, Vieira FC¹, Bassit RP^{1,2}, Borducchi DM^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santa André, SP

² Central Clinic

Introdução: A Trombocitemia Essencial (TE) é uma doença mieloproliferativa crônica da série megacariocítica, evoluindo com plaquetose persistente e fenômenos hemorrágicos e/ou trombóticos. Em alguns casos, surge a entidade conhecida como trombocitemia familiar, geralmente não necessita tratamento, salvo quando culmina em fenômenos trombóticos e/ou hemorrágicos. **Objetivos:** Relatar o caso de duas irmãs com diagnóstico de TE, admitidas em serviço particular do grande ABC para tratamento por fenômenos tromboembólicos. **Resultados:** Paciente feminina, 65 anos, da entrada no serviço encaminhada pela cardiologista em outubro de 2008 para avaliação de anticoagulação por episódio de TEP em Julho de 2008, fazendo uso de varfarina, com INR=3.57. Durante triagem de coagulopatia, verificou-se em novembro do mesmo ano, pl aquetose de $707000/\text{mm}^3$, tendo então sido iniciada investigação de TE, comprovada em dezembro do mesmo ano por BMO com hiperplasia de linhagem megacariocítica. *BCR-ABL* WT, *JAK-2* WT, cariótipo normal. Iniciado tratamento com hidroxiuréia. Dois anos após esse episódio, a irmã vai em busca do serviço por alteração hematimétrica em exame de rotina com $\text{Pqt}=869000$, tendo também sido diagnosticada com trombocitemia essencial, e antecedente pessoal de AVC há dois anos. Pesquisa de mutações revelou mutação *JAK-2* V617F presente, *BCR-ABL* WT e cariótipo normal. Pelo antecedente pessoal, também optou-se por iniciar tratamento com hidroxiuréia a fim de evitar novos eventos trombóticos. **Conclusão:** A TE familiar é rara, habitualmente não associada a fenômenos tromboembólicos e neste sentido sem necessidade de tratamento. A indicação de hidroxiuréia para estas pacientes foi baseada na ocorrência de alterações tromboembólicas.

0409

Análise de eventos trombóticos em pacientes com trombocitemia essencial na Santa Casa de São Paulo

Nascimento AC, Miranda CR, Silva LS, Teixeira EC, Chiattono CS

Irmandade da Santa Casa de São Paulo, Hemocentro da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP

Introdução: A Trombocitemia Essencial (TE) é uma patologia caracterizada pelo aumento da contagem plaquetária, resultante de proliferação autônoma e clonal de células-tronco da medula óssea, fazendo parte do grupo das neoplasias mieloproliferativas crônicas clássicas. A partir da identificação da mutação *JAK2* V617F, presente em 50-60% dos casos, nossa compreensão sobre os mecanismos da doença e avaliação diagnóstica progrediram bastante. Os pacientes portadores de TE apresentam curso clínico longo, com quase nenhuma modificação na sobrevida se comparados à população em geral. As manifestações trombo-hemorrágicas são a principal causa de morbidade e responsáveis pelo comprometimento da qualidade de vida desses indivíduos. As tromboembos podem preceder o diagnóstico ou surgir durante o curso da doença

e acometer qualquer território vascular. A idade acima de 60 anos e contagem plaquetária acima de $1000 \times 10^9 /L$ estão claramente relacionados à maior risco de trombose, mas outros fatores têm sido considerados como leucocitose ao diagnóstico, presença da *JAK2 V617F*, hematócrito mais elevado e presença de fatores de risco cardiovascular. **Objetivos:** Primários: analisar a prevalência de eventos trombóticos em pacientes com TE acompanhados na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Secundários: avaliar os fatores de risco associados ao quadro de trombose. **Métodos:** Análise retrospectiva de prontuários de pacientes com diagnóstico de TE, conforme critérios diagnósticos da Organização Mundial de Saúde de 2008 quanto à presença de eventos trombóticos. Foram avaliados tipo de trombose (arterial ou venosa), se pré ou pós-diagnóstico, presença de *JAK2 V617F*, idade, sexo, contagem plaquetária e fatores de risco cardiovascular como hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, tabagismo e dislipidemia. **Resultados:** Foram avaliados 52 pacientes, sendo que 7 (13%) apresentaram evento trombótico. Destes 5 ocorreram em território arterial (AVCi e em pododáctilo) e apenas 2 em sítio venoso (esplâncnico). Em 5/7 pacientes a manifestação trombótica ocorreu antes do diagnóstico e em 2, durante o curso da doença. Comparados os grupos com e sem trombose, observamos a *JAK2 V617F* em 43% e 29%, idade maior de 60 anos em 14 e 45%, sexo feminino em 57 e 69%, leucocitose ao diagnóstico em 43 e 15%, plaquetose em 13 e 42%, presença de fatores de risco cardiovascular em 57 e 60%, respectivamente. **Discussão e Conclusão:** A frequência de trombose foi de 7%, com a maior parte dos eventos ocorridos antes do diagnóstico e em pacientes abaixo de 60 anos, podendo representar bom controle da complicação com terapia antiplaquetária e/ou citoreduzidora. Dos fatores analisados apenas a presença da *JAK2 V617F* e a leucocitose foram mais prevalentes nos pacientes com trombose.

LEUCEMIAS AGUDAS

0410

Análise retrospectiva das características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais dos pacientes portadores de leucemias agudas tratados no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina entre 2006 e 2010

Rodrigues SS, Rudolf-Oliveira RC, Del-Moral JA, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

Introdução: As leucemias agudas (LA) compreendem um grupo heterogêneo de neoplasias hematológicas que resultam da proliferação descontrolada de células progenitoras hematopoéticas na medula óssea e/ou nos tecidos linfoides, as quais, com sua evolução, atingem a circulação periférica e podem se infiltrar em outros sistemas orgânicos. Desde 2005, o Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) é um dos centros de referência no Estado de Santa Catarina (SC) para neoplasias hematológicas, e, dessa forma, atende muitos pacientes com LA. Porém, até o momento não foram realizados estudos retrospectivos para avaliar os casos atendidos. Assim, o objetivo desse trabalho é conhecer o perfil dos pacientes com LA diagnosticados e tratados no HU-UFSC no período de 2006 a 2010, por meio da avaliação das características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais. **Métodos:** Trata-se de um estudo retrospectivo e descritivo, no qual foram avaliados 78 pacientes com diagnóstico de LA, de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (2008), entre o período de 2006 a 2010 atendidos pelo Serviço de Hematologia do HU-UFSC. **Re-**

sultados e Discussão: Do total de 78 pacientes atendidos, as mesorregiões que apresentaram o maior número de casos foram o Vale do Itajaí e a Grande Florianópolis (37,2% e 26,9%, respectivamente). As principais queixas dos pacientes na admissão foram anorexia, fadiga, palidez, dores pelo corpo e febre, além de epistaxe e gengivorragia na LMA e linfonodomegalia e hepatoesplenomegalia na LLA. A maioria dos casos (79,6%) era de pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA), seguidos de leucemia linfóide aguda [(LLA) – 21,8%] e de leucemia bifenotípica (1,3%). Entre as LMAs, o subtipo mais frequente foi a leucemia promielocítica aguda [(LPA) – 31,6%] seguida pela LMA sem maturação (20,0%); 85,0% dos casos eram LMA “de novo” e 15,0% LMA secundária. Dos pacientes com LMA (exceto a LPA), 66,7% tinham idade inferior a 60 anos (mediana LMA 58,5 anos – mediana LPA 35 anos). A análise citogenética na LPA demonstrou a presença da t(15;17) (q22;q12) em 20% dos casos. Com relação à LLA, o subtipo mais frequente foi a LLA B comum (59,0%) seguido da LLA pró-B e LLA pró-T (ambas com 11,8%); 47,1% dos pacientes tinham menos de 30 anos (mediana 33 anos) e 23,5% apresentaram citogenética desfavorável com a presença da t(9;22)(q34;q11). Dos pacientes que obtiveram remissão completa, 28,3% eram casos de LMA e 35,3% de LLA. Ao avaliar os óbitos, foram registrados 67,7% de LMA, dos quais 16,7% foram na fase de indução; e 64,7% de LLA, dos quais 23,5% foram na fase de indução. **Conclusão:** Com Resultados obtidos nesse estudo foi possível observar que a maioria dos casos de leucemia aguda atendidos no HU-UFSC trata-se de pacientes com LMA com idade inferior a 60 anos; e, dentre as LMAs, o subtipo mais frequente é a LPA. Esses dados fornecerão informações necessárias aos profissionais da saúde para a promoção do melhor atendimento aos pacientes com LA, e, servirão de base para a formulação de futuras pesquisas prospectivas.

0411

Importância da associação da morfologia, da imunofenotipagem e da biologia molecular para o diagnóstico e estratificação de prognóstico da leucemia promielocítica aguda

Cunha HP, Tamanini DA, Silva NM, Rudolf-Oliveira RC, Mengatto V, Coelho C, Gaspar PC, Durigon GS, Del-Moral JA, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

Introdução: A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é um subtipo de Leucemia Mieloide Aguda (LMA) caracterizada citogeneticamente pela translocação recíproca e balanceada entre os cromossomos 15 e 17 [t(15;17)(q22;q12)], a qual resulta na parada maturativa das células da linhagem mieloide no estágio de promielócitos. A LPA compreende aproximadamente 10% a 15% das LMAs diagnosticadas em adultos, no entanto, em alguns países essa proporção é maior, o que inclui o Brasil (28,2%). Os promielócitos da LPA podem ser de dois tipos: hipergranulares e microgranulares. Nesse contexto, o presente trabalho relata o caso de uma paciente diagnosticada com LMA, na qual a avaliação morfológica foi fundamental para classificação do tipo de LPA. **Relato do caso e Discussão:** Paciente do gênero feminino, 19 anos, realizou exames pré-operatórios, cujo hemograma evidenciou pancitopenia. A paciente foi admitida no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina com astenia e episódios de vômitos. Além disso, referia palidez, sangramento gengival, cefaleia, perda de apetite, tontura ocasional e infecção por *Candida albicans*. Entre os exames realizados, destacam-se o hemograma, o mielograma, a reação em cadeia da polimerase-transcriptase reversa (RT-PCR) e a imunofenotipagem por citometria de fluxo. No hemograma solicitado na admissão, foram visualizados 23% de blastos e presença de *Faggot cells*; 10,8 g/dL hemoglobina, 40000 plaquetas/mm³ e 1580 leucócitos/mm³. Na análise do mielograma, a amostra de medula óssea (MO) apresentava-se hiperplasmática.

com grumos medulares, na qual puderam ser visualizados 93,6% de promielócitos, com tamanho médio, citoplasma hipergranular e que apresentavam bastonetes de Auer, com formação de *Faggot cells*. A RT-PCR detectou a $t(15;17)(q22;q12)$, cujo resultado indicou a presença de banda compatível com o transcrito *bcr3*. A imunofenotipagem da MO apresentou 82,17% de células patológicas, com expressão dos antígenos CD45 fraco, CD34 (26%), CD117, CD13, CD33, CD64, CD2, CD71, CD123 e MPO. Do ponto de vista imunofenotípico, a expressão heterogênea de CD13, a expressão forte e homogênea de CD33, a expressão de MPO, e a negatividade dos antígenos CD15, CD11b e HLA-DR, os quais são característicos na LPA. Estudos evidenciaram que a expressão de CD2 e CD34 e a presença de leucocitose estão associadas à LPA microgranular. Além disso, quando o CD34 está expresso, existe uma maior proporção de casos com a presença do transcrito *bcr3*. Por outro lado, a análise morfológica evidenciou promielócitos com abundantes granulações azurófilas no citoplasma. Devido a esse achado, a LPA foi classificada como hipergranular, apesar das evidências de que os padrões moleculares (*bcr3*) e imunofenotípicos (CD2+ e CD34+) encontrados nesse caso estão associadas à LPA microgranular. Em vista disso, após a análise dos Resultados laboratoriais, o caso foi diagnosticado como LPA hipergranular com $t(15;17)(q22;q12)$. **Conclusão:** O diagnóstico das leucemias agudas deve ser baseado na avaliação clínica e nas análises imunofenotípicas, citogenéticas e moleculares, associadas aos Métodos tradicionais, como a análise morfológica. A associação dos Resultados dos exames laboratoriais fornece informações complementares e, dessa maneira, contribui para o diagnóstico correto das neoplasias hematológicas.

0412

Associação entre a expressão das proteínas de resistência a múltiplas drogas e alterações moleculares e sobrevida nas leucemias agudas

Moraes AC, Ferreira AS, Coelho C, Rudolf-Oliveira RC, Goncalves KT, Burnatt G, Mengatto V, Del-Moral JA, Bazzo ML, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

Introdução: As leucemias agudas (LAs) constituem um grupo de neoplasias malignas caracterizado pela proliferação descontrolada de células hematopoéticas na medula óssea e/ou nos tecidos linfoides. Segundo a OMS (2008), para um preciso diagnóstico e uma correta estratificação do prognóstico de pacientes com LA deve-se pesquisar a presença de alterações genéticas. No entanto, o prognóstico das LAs é multifatorial e as alterações genéticas não são suficientes para explicar as respostas heterogêneas ao tratamento. Nesse contexto, estudos demonstraram que a resistência à quimioterapia também pode ter importante papel no prognóstico dos pacientes com LA. A resistência a múltiplas drogas (MDR) é o maior obstáculo clínico no tratamento de neoplasias hematológicas e é caracterizada pela resistência cruzada a uma ampla variedade de fármacos não relacionados estrutural e funcionalmente. Vários mecanismos podem estar envolvidos no fenômeno MDR, como a superexpressão de *ABCB1*, *ABCC1* e *LRP*. Essas proteínas são bombas de efluxo de fármacos através da membrana plasmática e sua superexpressão é considerada um fator prognóstico importante. **Objetivo:** O objetivo desse trabalho foi analisar a associação entre a expressão das proteínas relacionadas à resistência a múltiplas drogas (*ABCB1*, *ABCC1* e *LRP*), as alterações moleculares e a sobrevida dos pacientes com LA, ao diagnóstico, atendidos pelo Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da UFSC, no período de Janeiro de 2008 a Abril de 2012. **Métodos:** Os blastos foram separados por gradiente de densidade com Ficoll-Hypaque e a expressão dos genes MDR foi avaliada por RT-PCR semiquantitativo. O fenótipo MDR foi avaliado por citometria de fluxo e os blastos foram caracterizados pela marcação de CD34

e CD45. A mediana da expressão relativa de todas as amostras foi utilizada como ponto de corte para superexpressão. A detecção das translocações foi realizada por RT-PCR e as mutações no gene *FLT3* por PCR. **Resultados:** Foram avaliadas 61 amostras de pacientes com diagnóstico de Leucemia Mieloide Aguda (LMA; N=39), Leucemia Linfóide Aguda (LLA; N=21) ou Leucemia Bifenotípica Aguda (N=1). Das LMAs, 13 apresentaram a $t(15;17)$ e dois a $t(8;21)$, enquanto a $t(9;22)$ foi positiva em três casos de LLA. Dois pacientes apresentaram mutação do tipo *FLT3-DIT* e apenas um apresentou a mutação *FLT3-D835*. A mediana de idade foi de 43 anos (15 a 84 anos), sendo 33 homens e 28 mulheres. Do total de pacientes, 24 foram a óbito (LMA – 16 e LLA – 8) com sobrevida média de 2,2 e 4,5 meses para as LMAs e LLAs, respectivamente. Em 20 (32,8%; N=40) casos foi observado superexpressão fenotípica de *ABCB1*, em 19 (31,1%; N=40) casos de *ABCC1* e em 10 (16,4%; N=22) casos de *LRP*. A superexpressão gênica de *ABCB1*, *ABCC1* e *LRP* foi observada em 13 (21,3%; N=35), 24 (39,3%; N=49) e 24 (39,3%; N=49) casos, respectivamente. Não foi observada associação significativa entre a superexpressão das proteínas MDR e as alterações moleculares investigadas. No entanto, houve uma associação significativa entre a superexpressão do gene *ABCB1* e a taxa de óbito dos pacientes ($P=0,004$). **Conclusão:** As proteínas MDR não apresentaram associação significativa com as alterações moleculares de importância prognóstica nas LAs. No entanto, houve associação entre a expressão gênica de *ABCB1* e o óbito dos pacientes com LA.

0413

Leucemia mieloide aguda em gestante: relato de caso

Cardoso KC, Catecati T, Santos L, Rudolf-Oliveira RC, Gaspar PC, Mengatto V, Franco MJ, Durigon GS, Del-Moral JA, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

Introdução: As neoplasias hematológicas na gravidez colocam em risco a mãe e o feto. O diagnóstico das neoplasias durante esse período é um desafio devido à sobreposição da doença com alguns sintomas relacionados à gravidez. Estima-se que a prevalência de leucemias durante a gravidez é de 1 caso a cada 75000 a 100000 gestantes. Em geral, 2/3 dos casos das leucemias em gestantes são de Leucemia Mieloide Aguda (LMA). O tratamento deve ser imediato e completo, independente do estágio gestacional, pois a demora no início da terapia pode resultar em uma menor possibilidade de remissão. Caso o diagnóstico tenha sido no primeiro trimestre, sugere-se a interrupção da gestação. Por outro lado, se a gestação estiver no 2º ou 3º trimestre é possível considerar o parto pré-maturo, no entanto, o tratamento pode ser iniciado mesmo antes da realização do parto. **Relato do Caso Clínico:** Paciente de 36 anos, gestante, apresentou suspeita de LMA no 2º trimestre da gestação (26ª semana). Foi admitida no Hospital Universitário da UFSC para investigação do diagnóstico. No hemograma de admissão, apresentou 2400 leucócitos/mm³ com 22,0% de blastos. Na imunofenotipagem de medula óssea foi observada a presença de 20,0% de células blásticas (CD45+ fraco CD34++ CD117+) com expressão de marcadores de linhagem mieloide (CD13+ CD33+ MPO+), sem sinais fenotípicos de maturação (CD15 negativo). Dessa forma, o diagnóstico foi compatível com LMA sem maturação. A pesquisa das alterações moleculares $t(15;17)(q22;q12)$, $t(8;21)(q22;q22)$ e mutações nos genes *FLT3* foram negativas. Após o diagnóstico, iniciou-se o primeiro ciclo de indução de quimioterapia, no qual foi realizado sete dias de infusão contínua de citarabina e três dias de daunorrubicina uma vez ao dia. O segundo ciclo de indução foi realizado com doses intermediárias de citarabina por quatro dias e mitoxantrona por três dias. Após esse período, a paciente ainda não apresentava resposta esperada ao tratamento, pois o mielograma apresentou 14,0% de mieloblastos e a imunofenotipagem, 8,8% de blastos.

Devido à ausência de remissão, o parto foi antecipado para a 32ª semana. Após o parto, inesperadamente, a paciente apresentou remissão, confirmada pelos Resultados do hemograma, mielograma e imunofenotipagem. Em vista disso, a equipe médica decidiu iniciar os três ciclos de consolidação com altas doses de citarabina em dias alternados. Na imunofenotipagem realizada durante a consolidação, foram observadas 1,15% de células progenitoras CD34++ com assincronismo maturativo; entretanto, ao final do tratamento a paciente apresentava doença residual mínima de 0,001%. **Discussão e Conclusão:** O diagnóstico de câncer na gestação é um evento traumático e é um desafio tanto para a paciente e sua família, quanto para a equipe médica. Isso se dá em virtude da necessidade de tratar uma doença potencialmente fatal e que gera preocupações relacionadas ao prognóstico desfavorável para o feto e aos dilemas terapêuticos, éticos, sociais e religiosos. Embora o caso em questão tenha obtido sucesso clínico e terapêutico, os dados relacionados às neoplasias hematológicas na gestação ainda são escassos e retrospectivos, o que justifica a necessidade de mais estudos referentes ao assunto. Dessa forma, com mais conhecimento, decisões mais eficazes, exatas e seguras poderão ser tomadas, multiplicando-se os casos de sucesso em neoplasias hematológicas na gestação.

0414

Leucemia promielocítica aguda: avaliação de 41 casos

Durigon GS^{1,2,3}, Moral JA^{1,2}, Santa SB¹, Santos-Silva MC^{1,2,3}

¹ Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

² Hospital Universitário, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

³ Programa de Pós Graduação em Farmácia

Introdução: A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é um subtipo de Leucemia Mieloide Aguda (LMA) caracterizada pela presença da translocação (15;17)(q22;q12) com quebra e fusão dos genes PML/RAR α , levando a uma parada na maturação das células mieloides promielocíticas. Associado à quimioterapia baseada em antraciclina, o principal fármaco utilizado é o ATRA (ácido all-transretinóico), responsável pela diferenciação dos promielócitos e remissão da doença. Em geral, pacientes respondem muito bem à terapia com ATRA. No entanto, o risco de recaída e morte ainda permanece um problema a ser elucidado. Algumas características morfológicas e biológicas dos promielócitos leucêmicos, como os promielócitos hipogranulares, a expressão do CD34, a duplicação do gene *FLT3* e a leucometria elevada vêm sendo associadas como fatores de pior prognóstico. Assim, avaliar os casos de alto risco é de suma importância. **Objetivos:** O objetivo deste trabalho foi analisar a evolução dos pacientes atendidos pelo Serviço de Hematologia (SH) do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) com diagnóstico de LPA, no período de 2001 a 2011. **Métodos:** Trata-se de um estudo retrospectivo e descritivo, onde foram avaliados 41 pacientes com diagnóstico de LPA, de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) 2008, entre o período de 2001 a 2011 no SH do HU-UFSC. **Resultados:** Do total de 41 pacientes, 23 eram do sexo masculino e 18 do sexo feminino. A mediana de idade foi de 34,8 anos (15 a 57 anos). O diagnóstico de LPA foi confirmado por imunofenotipagem e também por citogenética e/ou PCR para t(15;17). Clinicamente, os pacientes foram divididos como de baixo, médio e alto risco, de acordo com a leucometria e contagem de plaquetas, resultando em, 4, 25 e 12, respectivamente. A mediana de leucócitos foi de 4.360/mm³ (variando entre 400 a 89.000/mm³). Os sintomas mais marcantes apresentados pelos 41 pacientes foram relacionados a plaquetopenia como petéquias e equimoses, 50% dos casos apresentaram sangramentos mais graves. Trinta e cinco pacientes (85%) responderam bem ao tratamento com ATRA associado a quimio-

terapia. Seis pacientes (14,6%) recidivaram, dos quais três foram tratados com trióxido de arsênico seguido de transplante de células tronco hematopoiéticas com remissão molecular mantida. O óbito ocorreu em 10 pacientes (3 em recidiva, 1 abandono de tratamento e 6 com sangramento). Nenhum paciente de baixo risco recidivou ou foi a óbito. A expressão do CD34+ foi observada em 9 pacientes, desses, três casos apresentaram recidivas e cinco foram a óbitos. Foram observados cinco casos de LPA hipogranular, dos quais três obtiveram remissão completa, um em recidiva e dois foram a óbito. Nove pacientes apresentaram citogenética complexa, desses quatro foram a óbito. **Conclusão:** Com Resultados obtidos nesse estudo foi possível observar que a maioria dos casos de LPA atendidos no HU-UFSC tratavam-se de pacientes com idade inferior a 60 anos, de risco intermediário a alto, e que apresentavam marcadores biológicos de pior prognóstico, o que possivelmente contribuiu para a pior evolução clínica e óbito. Essas informações são necessárias para desenvolvimento de estratégias em relação à instituição do tratamento alvo precoce e de suporte para manifestações hemorrágicas e melhor acesso ao trióxido de arsênico para o tratamento da recidiva, visando reduzir a mortalidade na LPA.

0415

Comparação do gasto energético medido com o predito em pacientes com leucemia aguda antes e após o primeiro ciclo de quimioterapia

Galati PC, Chiarello PG, Nogueira MC, Furtado FM, Simões BP

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: A resposta metabólica em indivíduos com câncer pode variar, sendo o estado metabólico classificado em normometabólico, hipermetabólico ou hipometabólico, pela comparação do dispêndio energético medido com o dispêndio teórico calculado. O meio mais empregado para estimar o gasto energético é a utilização de equações preditivas derivadas de populações saudáveis e estas não contemplam possíveis modificações no gasto energético relacionadas ao câncer. **Objetivos:** Comparar o gasto energético basal (GEB) medido por calorimetria indireta com o predito pela fórmula de Harris-Benedict em pacientes recém diagnosticados com Leucemia Aguda, antes e após o primeiro ciclo de quimioterapia. **Métodos:** Esse estudo incluiu pacientes adultos com diagnóstico de Leucemia Aguda, internados na Enfermaria de Hematologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, SP. O GEB foi medido por calorimetria indireta em duas etapas: uma antes do primeiro ciclo de quimioterapia e a outra imediatamente após. O GEB predito foi calculado utilizando a fórmula de Harris-Benedict ajustada pela massa corporal. Considerou-se significante Resultados com $p < 0,05$. **Resultados:** Onze pacientes (dados preliminares) participaram da primeira etapa. Essa amostra apresentou idade média de 44,3 \pm 17,6 anos, sendo 6 do sexo feminino e 5 do sexo masculino. O GEB médio medido antes do primeiro ciclo de quimioterapia pela calorimetria indireta (36,13 \pm 8 kcal/kg) foi significativamente maior que o GEB predito por Harris-Benedict (20,32 \pm 2,9 kcal/kg). A diferença encontrada entre as duas formas de determinação do GEB foi, em média, de 15,8 \pm 7,3 kcal/kg, sendo que o dispêndio basal medido estava 77,8% acima do valor previsto. Dos 11 participantes da primeira etapa, 8 completaram a segunda fase do estudo. Esta amostra apresentou idade média de 36,8 \pm 12,8 anos, sendo 4 do sexo feminino e 4 do sexo masculino. O GEB médio medido após o primeiro ciclo de quimioterapia (28,9 \pm 5,97 kcal/kg) também foi significativamente maior do que o calculado pela fórmula preditiva (21,3 \pm 3,6 kcal/kg), sendo a diferença encontrada de 7,6 \pm 6,4 kcal/kg. Nesta etapa do estudo o dispêndio de repouso medido estava 35,7 % acima do valor previsto. **Conclusão:** A diferença média entre o GEB medido e o estimado foi significativamente maior antes do tratamento quimioterápico,

mostrando que a fórmula preditiva de Harris-Benedict é capaz de prever melhor o dispêndio energético após o tratamento quimioterápico, apesar de subestimar o GEB de pacientes com leucemia aguda nas duas fases do tratamento.

0416

Sarcoma granulocítico de vulva tratado com radioterapia isolada: relato de caso

Natori C, Cordeiro A, Filho MC, Gonzaga Y

Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Caso: M.J.S, 70 anos, feminina, parda, nulípara, natural de Minas Gerais.

Encaminhada ao INCA em Julho de 2010, com relato de surgimento de nódulo infiltrativo em vulva de 8 cm. Realizada biópsia da lesão vulvar, cujo diagnóstico morfológico inicial foi de carcinoma indiferenciado. A imunohistoquímica, entretanto, evidenciou positividade para CD45 e mieloperoxidase, fechando o diagnóstico de SG. A paciente foi encaminhada para o Serviço de Hematologia para definição terapêutica. Apresentava estado geral regular, *performance status* (PS) de 2 e edema de membro inferior esquerdo (MIE) sugestivo de trombose venosa profunda (TVP). A TC da região pélvica evidenciava lesão em vulva de 10 cm, com extensão para região perianal e glútea, além de adenomegalias inguinais volumosas bilaterais. O hemograma não apresentava alterações e não havia blastos no sangue periférico. A dosagem de DHL era normal. Realizaram mielograma e biópsia de medula óssea que não evidenciaram infiltração. Realizado Doppler de MIE que confirmou TVP, tendo sido iniciada anticoagulação com enoxaparina. A paciente foi considerada inelégivel para quimioterapia (QT) de indução para LMA. Em virtude de não apresentar evidência de doença medular ou outro sítio de acometimento extramedular, foi avaliada para tratamento radioterápico exclusivo. Recebeu radioterapia (RT) sobre a pelve, incluindo perineo, região perianal e glútea e cadeias de drenagem linfática (incluindo os linfonodos inguinais), na dose de 30Gy em 15 frações. Apresentou diarreia, mucosite vulvo-vaginal e radiorinite grau II, tratadas com sintomáticos. Após o término da RT, realizou Ressonância de pelve que evidenciou desaparecimento completo da lesão vulvar e das linfonomegalias. Seguiu em anticoagulação plena por 6 meses e acompanhamento ambulatorial, retomando suas atividades habituais. Após o término do tratamento manteve-se assintomática, em acompanhamento ambulatorial exclusivo e sem necessidade transfusional por mais de um ano, quando apresentou sinais de recidiva tumoral fora do campo da RT associado à presença de blastos no sangue periférico e medula óssea (3%), vindo a falecer pouco tempo depois.

Discussão: O SG, mesmo isolado, deve ser tratado com QT para LMA. A escolha do tratamento da LMA no paciente idoso, entretanto, deve levar em consideração a presença de co-morbidades e o cariótipo da leucemia. Pacientes considerados inelégíveis para QT intensiva são tratados de forma paliativa, sendo o Ara-C em baixas doses a droga mais utilizada, geralmente associada ao uso de fatores de crescimento e suporte transfusional. Nós relatamos o caso de uma paciente idosa, com diagnóstico de SG isolado de vulva, que foi considerada inelégivel para tratamento de indução para LMA. Entretanto, devido a apresentação clínica tumoral, com sintomatologia exclusivamente local, optamos por indicar a RT exclusiva, apesar de não haver recomendação formal sobre a melhor conduta nesses casos. **Conclusão:** A RT isolada talvez seja uma boa opção terapêutica paliativa em pacientes portadores de SG isolado, que não sejam candidatas a QT para LMA, com bom controle local da doença, sem impacto desfavorável na qualidade de vida.

0417

Leucaférese terapêutica em adultos com leucemia mielóide aguda hiperleucocitária - experiência do Instituto Nacional De Câncer - INCA

Filho MRA, Moreno SB, Dobbin JA, Motta IJ, Fernandes RF, Gonzaga YB

Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A leucemia mielóide aguda (LMA) hiperleucocitária está associada a altas taxas de mortalidade precoce atribuídas às disfunções orgânicas causadas pela obstrução da microcirculação por células blásticas. A hiperleucocitose é arbitrariamente definida na maioria dos estudos como uma contagem de leucócitos > 100000/mm³. A leucostase é a síndrome clínica resultante e caracteriza-se por sintomatologia predominantemente respiratória e neurológica. A leucaférese terapêutica é um método eficaz na redução rápida da leucometria e tem sido utilizada na maioria desses pacientes, onde parece reduzir a mortalidade precoce, porém sem impacto na sobrevida a longo prazo. **Métodos:** Análise retrospectiva dos pacientes adultos com LMA hiperleucocitária que foram submetidos à leucaférese terapêutica entre Janeiro 2001 e Junho de 2012. Os pacientes foram avaliados em relação a dados demográficos, leucometria, subtipo FAB, sinais e sintomas de leucostase, coagulopatia, presença de disfunções orgânicas, número de aférese e realização de quimioterapia (QT). A mortalidade precoce foi definida como óbito nos primeiros 21 dias após a admissão. Todos os procedimentos utilizaram a Hemonetics MCS. **Resultados:** Foram avaliados 5 pacientes, com idades variando entre 36 e 70 anos. Desses, 2 apresentavam leucometria < 100000/mm³ ao diagnóstico, porém houve aumento durante a internação com subsequente leucostase. Todos os pacientes receberam citorredução com Hidroxiuréia (HU) a partir do dia da admissão, mas apenas 2 foram tratados posteriormente com QT de indução. Os demais foram considerados clinicamente inelégíveis (2 destes apresentavam disfunção hepática ao diagnóstico). Dos 5 pacientes, 4 faleceram nos primeiros 21 dias. O paciente que sobreviveu não apresentava sintomas de leucostase e atingiu remissão hematológica após a indução, mas perdeu o seguimento no INCA, pois continuou o tratamento em seu país natal (Argentina). **Discussão:** O papel da leucaférese como estratégia terapêutica na LMA hiperleucocitária ainda é discutido. A maioria dos estudos aponta para redução da mortalidade precoce, porém sem impacto na sobrevida a longo prazo, que permanece muito desfavorável. Ainda assim, a leucaférese terapêutica é recomendada nas LMA hiperleucocitárias com sinais e sintomas de leucostase. Essa série de pacientes tratados em nossa Instituição apresentou mortalidade precoce bastante elevada (80%), sugerindo ausência de benefício do procedimento nesses pacientes. Entretanto, o pequeno número de pacientes limita a avaliação do resultado e a presença de disfunção hepática em 2 pacientes (40%) ao diagnóstico também pode ter contribuído de forma desfavorável para o mesmo. **Conclusão:** Pacientes portadores de LMA hiperleucocitária apresentam prognóstico muito reservado, com altas taxas de mortalidade, mesmo quando submetidos à leucaférese terapêutica. Nossa série de casos evidenciou mortalidade precoce de 80%. Apesar disso, a leucaférese é recomendada como medida terapêutica inicial em pacientes com LMA hiperleucocitária e sinais e sintomas de leucostase com o objetivo de reduzir a mortalidade precoce, geralmente associada a alguma forma de quimioterapia.

0418

Potential anticancer a novel derivative of podophylotoxin in acute promyelocytic leukemia cellsSilveira AL¹, Júnior ALA¹, Faheina-Martins GV¹, Dantas BB¹, Vasconcelos FC², Faria FC², Maia RC², Araújo DA¹¹ Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB² Instituto Nacional de Câncer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introduction: Despite advances in research in the field of oncology, cancer is one of the main causes of death worldwide. Problems associated with *development of multi-drug resistance phenotype* and decreased cell death by apoptosis are primarily responsible for failures in chemotherapy. Therefore, there is demand for the *development* of new therapeutic agents more selective, potent and effective against tumor cells. In this context, a novel derivative of podophylotoxin, called A398, was synthesized and its potential anticancer was characterized in HL-60 cell line. **Methods:** The MTT cell viability assay showed that this compound was more toxic to HL-60 cells ($IC_{50} = 4,6 \pm 0,4 \mu M$) than human peripheral blood mononuclear cells ($IC_{50} > 50 \mu M$), after 24 hours of treatment. To assess the type of cell death induced in HL-60, cells were incubated with the derivative A98 (4, 6 and 8 μM) for 1, 3, 6 and 12 hours. Etoposide (5 μM) was used as a positive control. Flow cytometry was performed for detection of phosphatidylserine exposure, determination of mitochondrial membrane potential and estimation of caspases -8, -9, and -3 activity. DNA fragmentation was qualitatively analyzed by gel electrophoresis. The expression of bcl-2 was evaluated by western blot. To verify the involvement of MAPKs (Mitogen-activated protein kinases), HL-60 cells were pretreated with p38 inhibitor-SB 203580, JNK inhibitor-SP 600125 or ERK inhibitor-PD 98059 and the induction of apoptosis was determined by analyzing the sub-G₁ DNA damage, by flow cytometry. **Results and Discussion:** Death promoted by derivative A398 was time and concentration-dependent. After a period of 1 hour, there was an increase in mitochondrial membrane depolarization and inhibition of the expression of Bcl-2. After 3 hours, derivative A398 induced externalization of phosphatidylserine, promoted significant activation of caspases -8, -9 and -3 and induced maximal DNA fragmentation in 6 hours. These effects are much faster than the one promoted by etoposide. Pretreatment with the inhibitors of MAPKS resulted in an increase in the percentage of death induced by derivative A398. Consistent with these observations, the compound induced apoptosis through activation of intrinsic and extrinsic death pathways and acting on molecular targets that are amenable to therapeutic intervention, such as caspases, the anti-apoptotic protein Bcl-2 and MAPKs. So this compound has an anticancer potential, proving to be a good candidate for pre-clinical and clinical studies. **Financial Support:** CAPES, CNPq

0419

Inibição da atividade de CXCR4 com AMD3100 diminui o crescimento tumoral em modelo xenográfico de células MOLT-4Melo RC¹, Ferro KP¹, Junior GCF², Nowill AE², Saad ST¹¹ Centro de Hematologia e Hemoterapia, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP² Centro Integrado de Pesquisas Oncohematológicas na Infância – CI-POI, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Já é confirmado que o CXCR4 é expresso por células leucêmicas de forma que estas aproveitam-se disso para acessar nichos medulares que normalmente são restritos às células progenitoras, garantindo assim sua proteção à morte celular. Além disso, já foi

descrito a sua expressão em muitas outras neoplasias não-hematopoéticas, como câncer cerebral, pulmonar, entre outros. A ativação de CXCR4 pela quimiocina *Stroma-Derived Factor 1* (SDF-1) nestas neoplasias pode induzir uma variedade de respostas, tais como migração, sobrevivência e/ou proliferação. Por isso, o bloqueio desta via vêm cada vez mais sendo vista como alvo terapêutico. Pequenos inibidores de CXCR4, tais como plerixafor (conhecido também como AMD3100) estão sendo utilizados para este bloqueio mostrando Resultados anti-tumorais. No entanto, ainda há muito a ser feito para desvendar a função deste receptor na progressão tumoral. Diante disso, a proposta deste estudo foi investigar o papel do receptor de quimiocina CXCR4 no crescimento tumoral de células MOLT-4 *in vivo*. Camundongos NOD/SCID (8 semanas de idade) foram inoculados subcutaneamente com células MOLT-4 pré-tratadas (AMD⁺) ou não com AMD3100 (AMD⁻) (1×10^7 células/camundongo, n=5 e n=3 em cada grupo, respectivamente). Os camundongos inoculados com células MOLT-4 AMD⁺ foram tratados intraperitonealmente com 5mg/kg de AMD3100 (camundongos tratados AMD) 3 vezes por semana por 21 dias. Os camundongos MOLT-4 AMD⁻ foram tratados da mesma forma com PBS (camundongos controles). A progressão da doença dos tumores AMD⁺ e AMD⁻ foi monitorada nos dias 12-21 realizando a medição dos tumores (cm³) a cada 2 dias com o uso de paquímetro e o volume tumoral calculado. Após 21 dias da inoculação os camundongos foram sacrificados e os tumores removidos para a mensuração do peso (mg). Os Resultados são descritos como mediana; min-max e $p < 0.05$ foi considerado significativo. Camundongos injetados com células MOLT-4 desenvolveram grandes tumores, porém a inibição de CXCR4 nestas células (AMD⁺) resultou numa diminuição significativa no peso dos tumores quando comparamos os camundongos tratados AMD (710; [710-840]) com os camundongos controles (540; [520-550]) ($p = 0.03$, Mann-Whitney test). Além disso, em relação ao crescimento tumoral entre os grupos foi observado um aumento da diferença no tamanho tumoral entre os tumores derivados de MOLT-4 AMD⁻ e MOLT-4 AMD⁺ ao longo do tempo ($p = 0.04$, Paired t test). Principalmente no 21º dia o tamanho dos tumores dos camundongos tratados AMD (715.8; [131-1037.1]) mostrou-se menor comparado com os camundongos controles (1137.3; [448.9-1732.6]). Estes Resultados sugerem que o CXCR4 pode ser um regulador positivo no crescimento tumoral de células MOLT-4, sendo a sua expressão importante em processos como proliferação e proteção contra apoptose, além da migração (dados já observados em nosso laboratório) podendo ser um importante alvo terapêuticos em cânceres hematológicos.

0420

Análise de parâmetros de estresse oxidativo em plasma de crianças com leucemia linfóide aguda (L1) antes e após o transplante de medula ósseaMezzomo J¹, Treméa R², Tavares GM¹, Stroher D¹, Pilar B¹, Güllich A¹, Nunes VT¹, Piccoli JC¹, Manfredini V¹¹ Universidade Federal do Pampa - Unipampa, Uruguaiana, RS² Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, RS

A Leucemia Linfóide Aguda (LLA) é uma doença causada pela produção descontrolada de linfoblastos e dificuldade de maturação destas células na medula óssea. Os linfoblastos substituem os elementos normais da medula, resultando em uma acentuada diminuição na produção de células sanguíneas normais. A LLA é uma doença causada por uma expressão anormal de genes, que é geralmente resultado de translocações cromossômicas. Esse tipo de neoplasia é mais comumente encontrada na população pediátrica, especialmente naquelas de cor branca e do sexo masculino. O transplante de células-tronco hematopoéticas é uma opção terapêutica que pode garantir maior sobrevida aos pacientes com LLA.

O estresse oxidativo ocorre em função do desequilíbrio das defesas antioxidantes do organismo e a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), podendo causar danos celular e tecidual. O presente trabalho objetivou avaliar os parâmetros de estresse oxidativo de crianças com LLA – L1 antes e após o transplante de medula óssea. Foram obtidas amostras de sangue total venoso em tubo EDTA de 10 crianças (7 meninos e 3 meninas) com idade entre 4 e 11 anos antes e após o transplante de medula óssea (TMO). O diagnóstico confirmatório da LLA – L1 foi realizado por citometria de fluxo no Laboratório de Oncologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Foram determinadas as espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), além da avaliação do dano oxidativo em proteínas plasmáticas e a dosagem de polifenóis totais. Os Resultados obtidos neste estudo apontam uma diminuição estatisticamente significativa dos níveis de oxidação de lipídeos (0,8 nmol TBARS / mg proteína; $p < 0,05$) e proteínas (1,8 nmol carbonil / mg proteínas; $p < 0,05$) após o TMO e um aumento nas defesas antioxidantes (9 nmol polifenóis; $p < 0,05$). Sugere-se, portanto que o TMO pode diminuir o estresse oxidativo e aumentar os níveis de polifenóis totais, podendo contribuir para uma melhora nas condições antioxidantes celulares de crianças com LLA – L1.

0421

Caracterização molecular da leucemia mielóide aguda - subtipo M2 por análises proteômicas

Binato R, Figueiredo A, Almeida NC, Silva ML, Abdelhay E

Divisão de Laboratórios do CEMO, Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é a neoplasia hematológica, caracterizada pela proliferação e acúmulo anormal de precursores mielóides na medula óssea, uma diminuição no nível de apoptose e uma parada de diferenciação destas células. A LMA é uma doença heterogênea composta de vários subtipos e a presença de anormalidades cromossômicas específicas é um dos fatores prognósticos mais importantes. Uma das alterações cromossômicas mais frequentemente observada (10 a 15%) é a translocação $t(8;21)(q22;q22)$, que envolve a fusão do gene *RUNX1* (também conhecido como *AML1*) no cromossomo 21, com o gene *RUNX1T1* (também conhecido como *ETO*) no cromossomo 8, levando a formação da proteína quimérica *RUNX1/RUNX1T1*, a qual apresenta diversas funções, entre as quais a inibição da diferenciação das células hematopoéticas. Geralmente essa alteração está associada a um prognóstico mais favorável. Entretanto faz-se necessário entender o que esta alteração está fazendo na biologia da célula, quais vias de sinalização estão sendo alteradas assim como a presença ou ausência dessa alteração citogenética pode estar relacionada com a evolução da doença e a resposta ao tratamento. Por isso, no intuito de obter importantes informações sobre as características moleculares desta neoplasia esse trabalho tem como objetivo analisar por proteômica comparativa o perfil proteico de amostras de pacientes com LMA-M2 que apresentam translocação (8;21), cariótipo complexo e cariótipo normal, previamente caracterizadas por citogenética e imunofenotipagem. Para isso comparamos extratos proteicos de amostras de pacientes com LMA- M2 com ou sem alteração citogenética através de géis bidimensionais (2D). Os géis obtidos foram analisados e comparados através do *software* Image Master 2-D Platinum 6.0 (GE). De todos os géis os *spots* foram visualizados, retirados, processados e identificados por MALDI-TOF-TOF 5800 (*Applied Biosystems*). Os Resultados de MS/MS foram analisados utilizando o programa MASCOT Daemon e o Banco de Dados Uniprot. Na análise comparativa dos géis bidimensionais do paciente com cariótipo normal e do paciente com $t(8;21)$ foi possível observar uma similaridade de 55% entre os *spots* proteicos visualizados nos géis e 20 proteínas foram encontradas diferencialmente expressas. Essas pro-

teínas estão relacionadas com diversas funções biológicas como inibição da apoptose, divisão celular e podem interagir entre si em processos relacionados com câncer. A importância destas proteínas para a biologia da doença está sendo investigado a luz das modificações na sinalização celular causadas pela presença da proteína quimérica *RUNX1/RUNX1T1* produzida em decorrência da $t(8;21)$. **Apoio financeiro:** CNPq, Ministério da Saúde, FAPERJ, INCT controle do câncer.

0422

Perfil molecular da translocação (9;11) em pacientes com leucemia mielóide aguda - subtipo M5

Binato R, Pizzatti L, Figueiredo A, Silva ML, Abdelhay E

Divisão de Laboratórios do CEMO, Instituto Nacional de Cancer – INCA, Rio de Janeiro, RJ

A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é uma doença clonal hematopoética caracterizada pela proliferação anormal de precursores mielóides, diminuição de apoptose e uma parada de diferenciação destas células. As células alteradas possuem uma vantagem de sobrevivência fazendo com que a medula óssea (MO) e o sangue periférico sejam caracterizados por leucocitose com predominância de células imaturas. À medida que estas células imaturas se acumulam na MO, elas substituem as células mielocíticas, megacariocíticas e eritrocíticas normais, levando a uma perda da função da MO e a complicações como sangramento, anemia e infecções. Estudos correlacionando a sobrevida com o cariótipo da célula leucêmica têm mostrado que a citogenética é um fator prognóstico indicativo para a obtenção de uma remissão completa, para definir a duração desta primeira remissão e na sobrevida total. As alterações genéticas que envolvem rearranjos do gene *MLL* localizado no cromossomo 11q23, associadas ao subtipo M5 da classificação FAB, são encontradas em 5 a 10% dos pacientes com LMA primária e são também frequentemente encontradas em LMAs secundárias após tratamento com inibidores de topoisomerase II. O gene *MLL* pertence a uma família cuja função está relacionada com a manutenção de uma determinada atividade gênica. Esta atividade depende do papel que *MLL* executa no recrutamento de fatores de remodelamento da cromatina. Diversos parceiros já foram descritos rearranjados com o gene *MLL* (11q23) e a $t(9;11)(p22;q23)$, envolvendo o gene *AF9*, representa a mais frequente translocação (cerca de 50%). Aos pacientes com LMA que apresentam rearranjos no gene *MLL* são normalmente atribuídos um fator prognóstico desfavorável. No entanto, existem evidências de que a $t(9;11)$ pode caracterizar um grupo de LMA com um fator prognóstico mais favorável entre crianças e possivelmente adultos com a translocação 11q23. Por isso, neste trabalho pretendemos analisar por proteômica e transcriptômica comparativa o perfil molecular de pacientes M5 que apresentam cariótipo normal (46,XX) e cariótipo 46,XX $t(9;11)$ no intuito de tentar entender o efeito da translocação $t(9;11)$ em um prognóstico mais favorável em pacientes com LMA com subtipo M5. Para isso, tanto o RNA quanto as PTNs dos pacientes analisados no estudo foram extraídos e utilizados em ensaios de chiparray e em análises por quantificação absoluta da expressão proteica, respectivamente. Até o presente momento por análise de chiparray foram encontrados 242 genes diferencialmente expressos entre paciente cariótipo normal e com $t(9;11)$. Já por análise proteômica, por ser mais sensível, podemos observar 913 proteínas diferencialmente expressas. Análises *in silico* dos Resultados obtidos usando o *software* Ingenuity Pathways Analysis (IPA) *software* (<http://www.ingenuity.com>) mostram que os genes aumentados na presença da translocação estão associados a proliferação celular, manutenção celular além de estar relacionado com câncer e morte celular. Já os genes diminuídos estão relacionados com sinalização célula-célula, ciclo celular dentre outros. Com isso podemos observar que existe uma assinatura

molecular associada a t(9;11) que pode estar relacionado com o prognóstico favorável em pacientes que apresentam esta translocação. Esses Resultados precisam ser confirmados em uma gama maior de pacientes por RT-PCR e western-blot. **Apoio financeiro:** CNPq, FAPERJ, Ministério da Saúde – INCa.

0423

Dermatite neutrofílica febril relacionada ao uso de ácido transretinoico no tratamento de leucemia promielocítica aguda

Miranda LR^{1,2}, Mulin CC^{1,2}, Rosa ES^{1,2}, Barbosa MA^{1,2}, Callera F^{1,2}

¹ Hospital Regional do Vale do Paraíba, Taubaté, SP

² Centro de Hematologia do Vale, Taubaté, SP

Introdução: O ácido transretinoico (ATRA), em conjunto com atraciclina e citarabina, é o tratamento de escolha para maioria das apresentações da leucemia promielocítica aguda (LPA). Entre os efeitos colaterais destaca-se a síndrome retinóide, contudo há poucas descrições sobre a dermatite neutrofílica febril semelhante à Síndrome de Sweet. **Relato de Caso:** FPA, 24 anos, feminino, diagnóstico de LPA confirmado por mielograma, peroxidase, cariótipo e imunofenotipagem medular. Tratamento iniciado com o protocolo ATRA/daunorrubicina/citarabina e após 17 dias observaram-se nódulos e pápulas violáceas em membros superiores e inferiores, principalmente em joelhos, dolorosas, acompanhadas de febre e neutrofilia (fotos). As medidas diagnósticas e terapêuticas foram respectivamente: biópsia da lesão de pele, descontinuidade do ATRA, administração de antimicrobianos de amplo espectro após coleta de culturas e associação de corticóide devido suspeita de reação cutânea relacionada a retinoide. Após vinte e quatro horas dessas medidas houve melhora importante da dor local e o paciente permaneceu afebril; ao longo de cinco dias houve melhora completa das lesões de pele. As culturas para fungos e bactérias foram negativas e a avaliação histopatológica revelou infiltrado neutrofílico na derme superficial sugestivo de dermatite neutrofílica semelhante à Síndrome de Sweet. O ATRA foi readministrado após vinte e quatro horas de suspensão e o paciente atingiu remissão da doença de base sem novas lesões de pele. **Discussão:** A descrição do caso sugere dermatite neutrofílica relacionada ao uso de ATRA. O diagnóstico diferencial envolve infecções ou infiltração neoplásica na pele. O tratamento com corticoides produz resposta marcante e a readministração do ATRA, na indução da remissão ou mesmo na manutenção, parece não trazer novos danos. **Conclusão:** Dermatite neutrofílica febril é um evento raro relacionado ao uso de ATRA. Quando tratada prontamente parece não interferir no curso do tratamento ou no prognóstico relacionado à LPA.

0424

Síndrome da leucoencefalopatia posterior reversível relacionada a tratamento quimioterápico: um relato de caso

Bastos FQ, Chapchap EC, Oliveira EM, Mariano LC, Colombo ES, Schkolnik R, Lage LA, Ilacer PD, Pereira J

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: A Síndrome da leucoencefalopatia posterior reversível ou PRES é uma desordem recentemente reconhecida pela literatura médica, que cursa com achados radiológicos característicos que podem envolver tanto a substância branca ou cinzenta da região parieto-occipital. Esta complexa síndrome está associada à hipertensão arterial sistêmica, terapia imunossupressora (uso de ciclosporina A, metotrexato, citarabina e L-aspar) e outras condições em que a pressão arterial eleva-se rapidamente. Sabe-

-se que o risco de PRES durante o tratamento quimioterápico da LLA é maior em crianças, provavelmente pela maior permeabilidade da barreira hematoencefálica. **Objetivos:** Relatar um caso de Síndrome da Leucoencefalopatia Posterior Reversível (PRES) no contexto do tratamento de consolidação de LLA. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, 23 anos, portadora de LLA pró-B *Philadelphia* positiva e antecedente de infiltração de sistema nervoso central. Após Conclusão da terapia de consolidação da indução da leucemia, composta por idarrubicina, citarabina, fludarabina e filgrastima, a paciente evoluiu com sonolência e após dois dias evoluiu com períodos de confusão mental acompanhada de alucinações visuais. Ao quadro, associou-se após 3 dias, desorientação temporária-espacial e nistagmo vertical, além de hipertensão arterial. Investigação com tomografia de crânio mostrou mínima redução da hipodensidade da substância branca subcortical em lobos parieto-occipitais em ambos os hemisférios, com apagamento de sulcos. Os achados da ressonância nuclear magnética foram concordantes com os da tomografia, mostrando hipersinal em T2/FLAIR na substância branca subcortical parieto-occipital, com acometimento cortical variável. Mediante a hipótese diagnóstica de PRES, a paciente foi submetida a tratamento com anti-hipertensivos. Objetivou-se monitorização clínica rigorosa, e nenhum novo curso de quimioterápicos foi administrado à paciente. No curso de uma semana observou-se remissão dos sintomas confusionais, com controle satisfatório dos níveis pressóricos. A paciente evoluiu com nistagmo vertical residual, que apresentou melhora lenta e progressiva. **Discussão:** A Leucoencefalopatia Posterior Reversível não é uma entidade familiar para muitos clínicos. As suas causas são diversas, mas os fatores precipitantes são a elevação da pressão arterial, disfunção renal com retenção de fluidos e uso de drogas imunossupressoras, como ciclosporina. Os sinais e sintomas clínicos e os achados de neuroimagem da PRES são bastante sugestivos, portanto, devem ser prontamente reconhecidos. **Conclusão:** Trata-se de uma síndrome potencialmente reversível cujo tratamento deve ser rapidamente iniciado mediante o controle da pressão arterial e a descontinuação das drogas imunossupressoras ou a redução das suas doses. Profissionais que lidam com pacientes em Oncologia devem estar atentos para o diagnóstico desta síndrome não tão comum.

0425

Caracterização clínica e laboratorial das leucemias linfóides agudas em crianças e adolescentes no Estado do Maranhão

Serra MB¹, Lopes TC², Veras GL³, Marinho HT², Andrade KN², Nunes JD², Oliveira RA^{1,2}

¹ Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luis, MA

² Centro de Pesquisa Clínica, Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luis, MA

³ Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello – IMOAB, São Luis, MA

A leucemia linfóide aguda (LLA) é o câncer mais comum na infância. Devido à sua expressiva prevalência dentre a faixa etária pediátrica, este trabalho objetivou caracterizar sob aspectos clínicos e laboratoriais as LLA em crianças e adolescentes no estado do Maranhão. Foram avaliados 65 pacientes menores de 18 anos com diagnóstico morfológico e imunofenotípico de LLA. Variáveis laboratoriais (valores do hemograma, porcentagem de blastos no sangue e medula e expressão imunofenotípica dos blastos), obtidos no Laboratório de Pesquisa Clínica do Centro de Pesquisa Clínica do HU-UFMA, e clínicas obtidas a partir dos prontuários médicos do serviço de oncologia do Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Belo (IMOAB). Os pacientes foram divididos em grupo de risco baseado no protocolo GBTLI-99. Nossos Resultados demonstraram que a idade média dos pacientes foi de 6,5 anos; em

relação ao gênero, 69,2% dos pacientes eram do sexo masculino e 30,8% feminino; dos subtipos imunológicos, 83,1% eram LLA-B e 16,9% LLA-T; de acordo com a morfologia 90,8% eram do subtipo L1, 7,7% L2 e 1,5 L3; em relação ao grupo de risco, 43,1% eram de alto risco e 56,9% de baixo risco; pelo critério de remissão ao D29 do tratamento, 72,3% obtiveram remissão, enquanto 27,7% não obtiveram remissão ou foram a óbito. O número médio de blastos na medula óssea e sangue periférico foi de respectivamente 75,8% ($\pm 22,2$) e 46,6% ($\pm 33,5$). A contagem de leucócitos foi de 32.400/mm³ (± 41.400 /mm³), a concentração de hemoglobina de 8,3g/dL ($\pm 2,2$), a contagem de plaquetas revelou 52.500/mm³ (± 55.200). A estratificação dos pacientes em variáveis clínicas e laboratoriais em nossa população podem colaborar em estudos comparativos na população pediátrica com LLA em outras regiões.

0426

Avaliação do desfecho entre pacientes com leucemias agudas do tipo mielóide e linfóide internados no Hospital Geral Dr César Calls de Oliveira no período de 2009 a 2011: grupo de leucemias como variável preditora de desfecho

Silva HF, Oliveira DS

Hospital Geral Doutor Cesar Calls de Oliveira

Introdução: O hospital estudado dispõe desde o ano de 2009 de serviço de Hematologia, no qual são tratadas majoritariamente doenças hematológicas malignas, em especial leucemias. As leucemias agudas não são um grupo de patologias homogêneas, sendo, de modo grosseiro, divididas em dois grandes grupos: as Leucemias Linfóides Agudas (LLA) e as Leucemias Mielóides Agudas (LMA). O estado do Ceará dispõe de poucos serviços que recebam pacientes com tais afecções. Neste contexto, o serviço instituído no Hospital Geral Dr César Calls de Oliveira (HGCCO) começou a atender pacientes a partir do ano de 2009, perfazendo até o ano corrente um total de 59 pacientes, 16 pacientes com leucemias linfóides (27,11%) e 43 pacientes com leucemias mielóides (72,88%). Do total estudado, 28,88% tinham como trabalho atual ou antigo a agricultura e possível exposição a agrotóxicos; 23,72% tinham como procedência a capital do estado, Fortaleza, sendo, pois, a maioria, cerca de 76,27%, formado por pacientes de origem interiorana. **Métodos:** Trata-se de um estudo de cunho ecológico, baseado na correlação entre tipo de leucemia aguda de pacientes internados no Serviço de Hematologia do HGCCO e o desfecho terapêutico. Para tanto usou-se teste qui-quadrado para avaliação de interação entre as variáveis citadas. **Resultados:** Foram avaliados 59 pacientes quanto à leucemia de apresentação ao serviço e o desfecho: se sobreviveu ou se morreu. Foram excluídos pacientes com tipo bifenotípico do estudo. Para avaliar a relação entre tipo de leucemia aguda e o desfecho foi utilizado o teste do qui-quadrado disponível no *software Epiinfo version 3.5.2*. Foi demonstrado que pacientes com LLA diagnosticados e tratados no serviço supracitado tiveram taxas de desfecho letal menor que os diagnosticados com LMA, numa relação de OR de 0,2149 (IC de 95%, 0,051-0,8341). Tal fato pode ser explicado pelo fato de, na casuística estudada, a maioria dos pacientes serem diagnosticados com LMA, mas também chama a atenção para outras explicações, dentre elas, o fato de que a maioria de nossos pacientes com LMA possuem idades mais elevadas, acima de 60 anos de idade, o que, além de ser um fator independente de mal prognóstico, também estão relacionados com uma menor resposta ao processo quimioterápico além de serem mais propensos a virem para a internação com comorbidades, as quais, sabidamente, dificultam a resposta terapêutica e a tornam menos eficaz a longo prazo. Faz-se necessário a continuidade do seguimento dos pacientes atendidos no serviço supracitado com o intuito de se entender melhor as demandas de atendimento e de cuidado necessitadas pelos usuários.

0427

Padronização de um teste de detecção de mutações no gene KIT em leucemia mielóide aguda

Petroni RC, Muto NH, Ramos OP, Machado LE, Pinho JR, Sitnik R, Velloso ED, Hamerschlak N, Campregher PV

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é uma neoplasia da medula óssea, caracterizada pela proliferação excessiva de células progenitoras mielóides (blastos), resultando em neutropenia, anemia e plaquetopenia. Os principais determinantes prognósticos em LMA são o cariótipo e alterações moleculares do blasto leucêmico, permitindo a classificação dos pacientes em grupos de risco de recidiva alto, intermediário e baixo. Mutações no proto-oncogene *KIT* estão presentes em 10 a 40% dos pacientes portadores de LMA CBF. Diversos estudos independentes demonstraram que a presença da mutação em *KIT* está associada ao aumento do risco de recaída e alta mortalidade em LMA CBF. Portanto, a pesquisa de mutação no gene *KIT* é um teste essencial na avaliação prognóstica de pacientes portadores de LMA CBF, possibilitando uma melhor estratificação e definição adequada de conduta. O objetivo do trabalho foi de desenvolver um teste "in house" para pesquisa de mutação em *KIT* e implantar este teste no laboratório clínico do Hospital Albert Einstein (HIAE). Foram utilizadas amostras de medula óssea ou sangue total de pacientes portadores de LMA (n=54), previamente analisadas no Laboratório Clínico do HIAE para avaliação citogenética e molecular. O DNA genômico de amostras de sangue ou medula foram extraídos utilizando-se kits comerciais segundo as instruções dos fabricantes. O DNA extraído foi utilizado para seqüenciamento do produto de PCR para detecção das mutações no éxon 17 e PCR com *primer* marcado seguido por eletroforese capilar e análise de fragmentos para detecção das mutações no éxon 8. Foram utilizados pares de *primers* descritos por Boissel *et al* (2006) submetidos à análise bioinformática de especificidade. Dentre as amostras testadas, 23 eram de pacientes portadores de leucemia CBF, e 31 de outros tipos de LMA. Nosso estudo detectou a presença de mutação no gene *KIT* em sete casos de CBF LMA. Destes, quatro apresentaram mutação no éxon 8, dois pacientes no éxon 17 e um paciente apresentou mutação em ambos os éxons 8 e 17. Estes dados estão em conformidade com a literatura, de mutações em *KIT* associadas com CBF LMA. Os testes de sensibilidade mostraram que a mutação no éxon 8 pode ser detectada até 5% de células mutadas, através da técnica de eletroforese capilar. Para o éxon 17, a sensibilidade encontrada foi de até 12,5% de células mutadas na amostra. A pesquisa de mutação nos éxons 8 e 17 do gene *kit* foi padronizada com sucesso e incluído no menu de exames do laboratório clínico do HIAE.

0428

Leucemia/linfoma de células T do adulto: relato de caso

Lima MH, Dantas SG, Monteiro PJ, Neves FF, Valença DS, Vale LL, Pereira CC, Lira AR, Costa VR, Botelho LF

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: O vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1) é um retrovírus encontrado em todo o mundo, adquirido via sexual, transfusional ou verticalmente. No Brasil, a infecção pelo HTLV-1 é endêmica, sendo Rio de Janeiro, Salvador, Recife e São Paulo as cidades com maior número de casos. O HTLV-1 foi o primeiro retrovírus associado a doenças humanas como a leucemia/linfoma de células T do adulto (ATL). AATL é uma neoplasia grave, em geral fatal, que ocorre com idade média de 43 anos. Cerca de 5% dos in-

divíduos infectados adquirem o ATL, manifestando-se, geralmente, após um longo período de latência. Os sinais clínicos mais encontrados ao exame físico são: adenomegalias, hepatoesplenomegalia e lesões de pele. Devido à diversidade de manifestações clínicas, a ATL foi subdividida em quatro formas clínicas: aguda leucêmica, crônica, linfomatosa e indolente, cada uma com características específicas. **Relato de Caso:** MGS, sexo masculino, 41 anos, natural e procedente de Recife-PE. Como doador de sangue, descobriu possuir o vírus HTLV-1. Após um longo período assintomático, cursou com lesões cutâneas, linfadenopatia generalizada e dispnéia com piora progressiva. Os exames mostraram leucocitose linfocítica, células com hiperbasofilia, hipercalcemia e níveis elevados de DHL e ácido úrico. A radiografia do tórax não apresentou alterações. Foi realizado mielograma que revelou Doença Linfoproliferativa de Células T associado ao HTLV (CD25+). O paciente evoluiu com piora progressiva e hipoxemia importante. Foi transferido para Unidade de Terapia Intensiva (UTI) onde se realizou novos exames confirmatórios. Devido ao quadro pulmonar, o paciente fez uso simultâneo de Cefepime, Vancomicina, Sulfametoxazol-Trimetoprim, Prednisona e Venturi a 50%. Iniciou-se posteriormente um esquema quimioterápico (CHOP). Houve melhora e o paciente saiu da UTI, dando seguimento do tratamento na enfermaria e evoluindo bem. **Discussão:** De acordo com os achados físicos, laboratoriais e o comprometimento respiratório sugere-se que o paciente apresente a forma aguda leucêmica da ATL. O paciente apresentou os critérios diagnósticos para a ATL (sorologia positiva para HTLV-1; diagnóstico citológico ou histológico de leucemia/linfoma de células T, com antígenos de superfície CD4+/CD25+; presença de linfócitos T anormais em sangue periférico, principalmente das células “em flor”), exceto a confirmação de integração monoclonal do DNA proviral do HTLV-1, pois não foi realizado por ser um exame de difícil acesso. A hipercalcemia é complicação frequente. A DHL encontra-se elevada na maioria dos pacientes. Os níveis séricos de cálcio e DHL refletem a extensão da doença, sendo considerados indicadores de agressividade desta patologia, características estas que o paciente apresentava. O número de leucócitos geralmente está normal ou aumentado no sangue periférico conforme o caso. Anemia, neutropenia e plaquetopenia são raramente observadas, e o paciente não manifestou estes achados. Vale ressaltar que a ATL é uma doença altamente agressiva, em geral com resposta inadequada à quimioterapia. A escolha do tratamento depende da forma clínica e da avaliação dos fatores prognósticos. Vários estudos têm sido realizados para análise da melhor modalidade terapêutica no tratamento da ATL, porém nenhum protocolo é satisfatório. Dessa forma, até o momento, não há nenhum tratamento curativo e a sobrevivência é de alguns meses.

0429

Associação de leucemia aguda bifenotípica com ataxia espinocerebelar: relato de caso

Monteiro PJ, Lira AR, Cunha AB, Valença DS, Pereira CC, Neves FF, Lima MH, Vale LL, Brasileiro RB, Botelho LF

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: As leucemias bifenotípicas caracterizam-se por apresentar marcadores morfológicos, citocímicos e imunofenotípicos tanto das linhagens linfóides como das mielóides. Os marcadores estão expressos nos blastos geralmente em mais de uma linhagem e a doença pode ter início nas células mais indiferenciadas. O diagnóstico é alcançado quando se tem dois ou mais pontos para duas linhagens específicas. As leucemias bifenotípicas incidem em 5 a 10% dos casos de leucemia aguda e parecem estar associadas com síndrome mielodisplásica prévia, leucemias secundárias, leucemias associadas à translocação (11q23) e com o cromossomo Filadélfia (Ph). As ataxias espinocerebelares são doenças genéticas neurodegenerativas, que apresentam um padrão autossômico dominan-

te e grande variabilidade clínica. Os sintomas iniciam tipicamente com alteração do equilíbrio, diminuição da coordenação motora dos membros e disartria. **Relato:** Paciente de 34 anos, sexo masculino, com história de dor abdominal em quadrante inferior esquerdo e parede dorsal direita há 16 meses. Relata início progressivo e caráter em pressão, sem irradiação. Refere perda ponderal de 5 kg, mas ausência de febre, sudorese e sangramentos anormais. Aos 22 anos, iniciou o quadro de ataxia espinocerebelar, apresentando desequilíbrio, dificuldade na marcha e disartria. Relata histórico desta doença na família, com pai, avô, sobrinha e três irmãos acometidos. Apresentava linfonodomegalia supraclavicular direita (1 cm) e axilar esquerda (1,5 cm). Ao exame neurológico, apresentava decomposição do movimento e dismetria, disidiococinesia, disartria e comprometimento da marcha e do equilíbrio. Para esclarecimento diagnóstico, foram realizados exames complementares. Ao hemograma, anemia (Hb = 9,1 g/dL), leucometria normal (10.650/mm³) com neutropenia (4% - 426/mm³), plaquetopenia (64.410/mm³) e 58% de blastos. No mielograma, intensa infiltração por blastos nucleolados, com núcleos regulares, citoplasmas agranulares de provável linhagem linfóide, representando 95% das células nucleadas contadas, sendo compatível com leucemia aguda de provável linhagem linfóide. A imunofenotipagem demonstrou a presença de marcadores de mais de uma linhagem, caracterizando leucemia bifenotípica. Estudos realizados na amostra de DNA do paciente pela técnica de análise direta do produto de PCR identificaram a presença de mutação responsável pela forma SCA3/MJD de ataxia espinocerebelar. **Comentários:** No presente caso, temos um paciente com diagnóstico de duas doenças raras: leucemia aguda bifenotípica (LAB) e doença de Machado-Joseph (MJD), também chamada de ataxia espinocerebelar tipo 3. O prognóstico do paciente é reservado. A LAB está associada a causas secundárias de leucemia, como as doenças genéticas. Portanto, a leucemia do paciente pode ser secundária às alterações genéticas da MJD, sendo um caso relevante para nortear pesquisas sobre esta associação.

0430

Pesquisa de rearranjos gênicos em pacientes adultos com leucemia linfóide aguda

Azevedo IF¹, Melo FC², Neves WB², Melo RA^{2,3}

¹ Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Recife, PE

³ Universidade de Pernambuco - UPE, Recife, PE

Introdução: A pesquisa de rearranjos gênicos é importante na classificação de risco e decisão terapêutica para pacientes com Leucemia Linfóide Aguda (LLA). A técnica da Reação em Cadeia da Polimerase pela Transcrição Reversa (RT-PCR) apresenta alta sensibilidade e especificidade para detectar fusões gênicas relevantes na LLA. **Objetivo:** Pesquisar a ocorrência dos rearranjos gênicos *BCR-ABL*, *E2A-PBX1* e *TEL-AML1* em pacientes adultos com LLA. **Métodos:** O estudo incluiu 41 pacientes com LLA de ambos os sexos e idade superior a 18 anos diagnosticados na Fundação Hemope no período de janeiro de 2008 a março de 2012. Os dados clínico-laboratoriais foram obtidos em consulta aos prontuários dos pacientes. Após consentimento, foram coletadas amostras de sangue periférico e/ou medula óssea para a extração do RNA. A padronização da técnica RT-PCR foi baseada no protocolo internacional *BIOMED-1* e uso de linhagens celulares como controles positivos. **Resultados:** A maioria dos pacientes era do sexo masculino (61%) e se encontrava na faixa de 18 a 34 anos de idade (56%). Os dados hematológicos e imunofenotípicos ao diagnóstico foram semelhantes aos da literatura científica. O rearranjo *BCR-ABL* foi detectado em 34% dos casos com a seguinte distribuição de isoformas: p210 (50%), p190 (29%) e dupla positividade (21%). O rearranjo *E2A-PBX1* foi detectado em 5% dos casos, em

concordância com trabalhos publicados. Nenhuma amostra foi positiva para o rearranjo *TEL-AML1*, no entanto, deve-se levar em consideração o número de casos estudados e a baixa frequência deste rearranjo em adultos (< 1%). **Conclusão:** O estudo permitiu identificar rearranjos gênicos de relevância para o tratamento e prognóstico de pacientes adultos com LLA.

0431

Mortalidade por leucemia na Paraíba e no Brasil no período 2000-2010

Lira AR¹, Silva TM², Silva TR³, Moreira PA¹, Valença DS¹, Ferreira CF¹, Dantas SG¹, Lima MH¹, Monteiro PJ¹, Cavalcanti LH¹

¹ Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

² Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande, PB

³ Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba – FCM-PB, João Pessoa, PB

Introdução: As leucemias constituem um grupo de neoplasias malignas que acometem o sistema hematopoiético, sendo classificadas de acordo com o tipo de célula afetada (linfóide ou mielóide) e com a forma de progressão da doença (aguda ou crônica). A etiologia da maioria das leucemias não é completamente conhecida, mas há evidências da associação com a exposição a radiações ionizantes, agentes alquilantes utilizados na quimioterapia e exposição ocupacional ao benzeno. No Brasil, a leucemia representa cerca de 3% de todos os tipos de câncer, ficando, em 2008, entre as neoplasias que mais se destacaram no país como causa de mortalidade, com 35,2% para o sexo masculino e 33,5% para o feminino. A imunossupressão resultante da doença e/ou induzida pela quimioterapia é uma das principais complicações, tornando as infecções oportunistas causas importantes na morbimortalidade da doença, ao lado da síndrome de lise tumoral e da hiperviscosidade sanguínea. **Objetivos:** Analisar o padrão de mortalidade por leucemia mieloide (LM) e linfóide (LL) na Paraíba, comparando-o com as taxas nacionais, no período de 2000 a 2010. **Métodos:** Foi realizada uma análise epidemiológica descritiva da mortalidade por leucemias na Paraíba e no Brasil, utilizando-se os dados do Sistema de Informação sobre Mortalidade, disponibilizado pelo DATASUS, no período supracitado. Os cálculos foram obtidos a partir de números absolutos utilizando-se a porcentagem, através do Programa Microsoft Excel. **Resultados:** Na Paraíba, a taxa de mortalidade por LM apresenta predominância em relação à LL, mantendo esse padrão ao longo dos anos. A diferença chega a ser de 48,14% em 2002. Essa tendência também é observada no Brasil, porém em menores proporções. A sobrevida dos pacientes, desde o advento da quimioterapia oncológica, tem aumentado de forma significativa, especialmente nas leucemias linfóides, o que pode explicar essa diferença. Comparando os anos 2000 e 2010 em números absolutos, verifica-se um aumento da mortalidade tanto por LM (19 e 49 mortes, respectivamente) como por LL (11 e 24 mortes, respectivamente), fato que também se observa no país. Esse aumento na Paraíba pode estar relacionado ao reduzido número de centros médicos especializados no Estado e ao preenchimento mais fidedigno do atestado de óbito, fatos que foram implicados em outro trabalho. Como a leucemia é uma doença frequente nos países industrializados, e questiona-se na literatura o papel do benzeno (componente químico presente em muitas atividades industriais) como causa da doença, o crescimento da industrialização no Estado também pode explicar esse aumento. **Conclusão:** Nos últimos anos, a melhoria no diagnóstico e no tratamento da leucemia tem aumentado a sobrevida dos pacientes. Entretanto, vale ressaltar que a sobrevida varia entre países desenvolvidos e em desenvolvimento, já que o tratamento é complexo e dispendioso. Apesar de todos os avanços, ainda se observam altas ta-

xas de mortalidade, representando a maior causa de óbito dentre as neoplasias pediátricas. Por isso, são importantes a prevenção primária e a assistência especializada, visando reduzir as causas implicadas na elevada morbimortalidade da doença.

0432

Padronizações das técnicas para detecção de doença residual mínima em leucemia linfoblástica aguda cromossomo filadélfia positivo (LLA PH+) expressando a isoforma BCR ABL (P190) e mutações pontuais no domínio tirosina quinase

Cappelletti PA, Bonecker S, Scholl V, Padilha TF, Zalberg IR

Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea - CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A LLA Ph+ é caracterizada por uma translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22 (Cromossomo Ph) gerando o gene de fusão *BCR-ABL*, o qual apresenta isoformas distintas: *BCR-ABL*^{P190}, é codificada pela isoforma e1a2 envolvendo o exon 1 do gene *BCR*. *BCR-ABL*^{P190} é detectada em todos os pacientes pediátricos com LLA Ph+ e em 2/3 dos pacientes adultos; *BCR-ABL*^{P210}, típica da Leucemia Mielóide Crônica (LMC), é observada em aproximadamente 1/3 das LLA Ph+ do adulto. A *BCR-ABL*^{P190eP210} apresentam atividade TK constitutiva. *BCR-ABL*^{P210} é suficiente para a transformação maligna na LMC. A LLA Ph+ ainda constitui um problema clínico já que não se encontra o sucesso terapêutico observado em outros subtipos de LLA. Protocolos terapêuticos que associam quimioterapia a inibidores tirosina quinase (ITK) estão sendo aplicados na LLA Ph+. A existência de uma metodologia molecular quantitativa (RT-qPCR) para avaliação da resposta terapêutica e detecção precoce de doença residual mínima (DRM) é fundamental. Pacientes não respondedores aos ITK devem ser avaliados para a presença de mutação no domínio tirosina quinase (DTK) para re-orientação terapêutica. A implementação e uniformização internacional de um RT-qPCR realizada no contexto do estudo "European Study Group on MRD detection in ALL" (ESG-MRD-ALL + EWALL; Pfeifer-Frankfurt Universitet) foi realizada seguindo os parâmetros de sensibilidade, especificidade, linearidade, limite de detecção, exatidão e precisão. A validação internacional da metodologia implementada permitirá que os Métodos desenvolvidos sejam utilizados com segurança na re-orientação terapêutica do paciente com LLA Ph+. Da mesma forma a validação da metodologia para a análise de mutação na *BCR-ABL*^{P190} é apresentada. **Métodos:** 40 amostras, do bio-banco do Lab. de Biomol. CEMO-INCA, de pacientes diagnosticados LLA Ph+ entre 2000 e 2012, foram analisadas. A quantificação de mRNA *BCR-ABL* foi realizada utilizando o sistema *TaqMan*, termociclador *Applied Biosystems* 7000 com sondas marcadas 5'FAM-3'TAMRA e iniciadores específicos para a isoforma p190. Diluições seriadas de DNA plasmídeo foram utilizadas como padrões do número de cópias para gerar uma dinâmica linear na proporção de 10⁶-10¹. Informações do ensaio: Controle endógeno: gene *ABL*; qualidade do cDNA adequada ≥ 30.000 cópias (*ABL*); Slope -3,41 (-3,30-3,53); Intercept 41,09 (40,1-42,08); R² 0,997 (0,995-0,999); Limite de determinação (LOD) 10 cópias e sensibilidade do ensaio > 4 logs. A identificação de mutações no DTK do gene *ABL* foi realizada seguindo o protocolo descrito por Branford *et al.* 2002, com modificação necessária na primeira amplificação incluindo um *set* de *primers* específicos à isoforma e1a2. Os produtos desta reação foram preparados para seqüenciamento direto de Sanger em ABI 3130 (XL). Os eletroferogramas foram analisados pelo *software Mutation Surveyor*[®] e confrontados com as seqüências referências disponíveis em bancos de dados. **Conclusão:** A monitoração molecular dos casos *BCR-ABL*^{P190} por RT-qPCR e a análise do *status* mutacional do DTK permitirá a avaliação, escolha e individualiza-

ção terapêutica para o paciente LLA Ph+. O aumento da coorte de estudo e a análise seriada de pacientes com LLA Ph+ para manejo clínico-terapêutico do paciente estão em andamento

0433

Validação da técnica de PCR em tempo real na detecção do rearranjo PML-RAR α da leucemia aguda promielocítica

Santos CF¹, Azevedo IF¹, Melo FC², Neves WB², Melo RA^{2,3}

¹ Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Recife, PE

³ Universidade de Pernambuco - UPE, Recife, PE

Introdução: A Leucemia Aguda Promielocítica (LAP) está relacionada em mais 90% dos casos com uma alteração genética, a translocação recíproca balanceada t(15;17)(q22;q21) que resulta no oncogene híbrido PML-RAR α . Este marcador molecular é útil para o diagnóstico e no estudo da doença residual mínima (DRM). Para tanto, é importante que as técnicas de análise molecular utilizadas para detecção desse rearranjo sejam submetidas à validação, sobretudo os Métodos *in house*, cujos reagentes ou sistemas analíticos são produzidos e validados pelo próprio laboratório para o apoio diagnóstico ou na pesquisa científica. **Objetivo:** Validar a técnica molecular da PCR em Tempo Real (RQ-PCR) *in house* para a detecção do rearranjo PML-RAR α . **Métodos:** A análise da sensibilidade entre as técnicas RQ-PCR e RT-PCR (Transcrição Reversa seguida da Reação em Cadeia de Polimerase) foi realizada por ensaio intralaboratorial. A metodologia utilizada para a RQ-PCR foi o sistema TaqMan[®]. A eficiência do ensaio foi medida através da curva padrão com uso de *kit* comercial. Foram analisadas a acurácia (sensibilidade e especificidade) e a precisão (repetibilidade e reprodutibilidade) da técnica RQ-PCR através de experimento de diluição seriada utilizando células NB4 por comparação interlaboratorial. **Resultados:** A sensibilidade alcançada pela técnica de RQ-PCR variou de 10⁻³ a 10⁻⁴ e para a RT-PCR foi de 10⁻², mostrando assim que para a detecção do rearranjo PML-RAR α a técnica RQ-PCR foi mais sensível. O ensaio de RQ-PCR apresentou alta especificidade e repetibilidade. A reprodutibilidade apresentou variação de um log na análise interlaboratorial em relação à sensibilidade do teste. Para a RT-PCR a medula óssea alcançou maior sensibilidade (10⁻⁵) quando comparada com o sangue periférico (10⁻²). Em relação ao tipo de transcrito a sensibilidade do *bcr 1* foi de 10⁻³e do *bcr 3* variou de 10⁻² a 10⁻³. **Conclusão:** Este estudo permitiu determinar a acurácia e a precisão das técnicas RQ-PCR e RT-PCR na detecção dos transcritos PML-RAR α para pacientes com LAP, possibilitando estabelecer um ensaio confiável para o diagnóstico e estudo da DRM. Além disso, a pesquisa servirá de base para a validação de protocolos de investigação laboratorial para outras doenças malignas do sangue.

0434

Avaliação dos parâmetros hematológicos e imunológicos de pacientes com leucemia mielóide aguda atendidos no Hemonorte, RN

Freire JM^{1,2}, Oliveira TM², Gil EA², Fernandes AL², Leão GD², Vasconcelos RC², Andrade GV¹, Farkatt IG¹, Leitão VC¹, Junior GBC^{1,3}

¹ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, RN

² Laboratório DNA Center - Análises Clínicas

³ Hemocentro Dalton Cunha – HEMONORTE

Introdução: Embora a citomorfologia ainda seja importante no diagnóstico da leucemia mielóide aguda (LMA), a imunofenotipagem

têm se tornado essencial no diagnóstico e acompanhamento desta neoplasia. Dentre estes Métodos, a citometria de fluxo tem se destacado como metodologia moderna, apresentando-se caracteristicamente como método de análise multiparamétrica e quantitativa de células sanguíneas normais e leucêmicas. **Objetivos:** realizar um estudo retrospectivo de imunofenotipagem em 38 casos de LMA. **Métodos:** Foram analisados 38 pacientes atendidos no Hemocentro Dalton Cunha, no período de 2011 a 2012. A Imunofenotipagem foi realizada em células blásticas por citometria de fluxo com um painel de anticorpos monoclonais específico para leucemias agudas constituído de: CD13, CD33, CD34, CD45, CD14, CD7, CD3, CD4, CD8, CD19, CD10, HLADR e IgM. Os parâmetros hematológicos foram obtidos em contadores hematológicos e a citomorfologia em distensões sanguíneas e de medula óssea coradas pelo leishmann. Paralelamente também foram obtidas informações referentes aos pacientes como idade e sexo bem como dados clínicos relacionados à doença. **Resultados e Discussão:** Dos 38 indivíduos analisados, 23 casos eram do sexo masculino e 15 do sexo feminino. Em relação à faixa etária constatou-se um maior número de casos em adultos. Com relação aos dados clínicos, observou-se que a hepatomegalia e a esplenomegalia estiveram presentes na maioria dos casos com 87.5%, e 50% dos casos, respectivamente. A imunofenotipagem demonstrou um perfil característico de LMA com expressão de CD13/CD33 em todos os casos e o CD34 na maioria dos casos. O CD14 foi reativo nas leucemias monocíticas, tendo sido também observado negatividade aos antígenos linfóides como o CD19, CD10 e CD3, com exceção do CD7 que esteve presente em 5 casos. Em relação à citomorfologia, observou-se uma correlação direta entre a citomorfologia e a classificação FAB, havendo um predomínio do tipo mielo-monocítica (LMA-M4) que correspondeu 41,7% dos casos. **Conclusão:** Estes dados demonstram a importância da imunofenotipagem no diagnóstico diferencial das LMA, em particular nos subgrupos com pouca ou nenhuma diferenciação celular, bem como no acompanhamento destas neoplasias.

0435

Leucemia/linfoma natural killer: relato de caso

Martins AV, Araujo LT, Campos FC, Oliveira AG, Zouain DS, Oliveira JM, Lopes MS, Cruz PF, Oliveira HM

Hospital Felício Rocho

Introdução: A Leucemia/Linfoma NK é rara, acomete igualmente homens e mulheres, especialmente na 3ª década de vida e está associada à infecção por EBV nas células neoplásicas. A sobrevivência é de semanas. Manifesta-se com febre, perda de peso, icterícia, infiltração da pele, linfadenomegalia, hepatoesplenomegalia. A hemofagocitose implica anemia severa e trombocitopenia. No sangue periférico, circulam células do linfoma, variando morfológicamente de linfócitos grandes granulares a blastos. É comum alteração da função hepática e coagulopatia intravascular disseminada. **Relato de Caso:** V.A.P., masculino, 60 anos, admitido com pancitopenia, febre alta diária, diarreia, vômitos e hiporexia no último mês. EF: febril, palidez cutânea, hepatoesplenomegalia e avaliação otorrinolaringológica normal. HP: etilismo pesado, diabetes tipo II, hemangioma de face e cirurgia para câncer de cólon há 4 anos. Exames: hipercalcemia, coagulopatia de consumo, alteração de função hepática, sorologias positiva para CMV, Parvovirus e Leishmaniose. EBV IGG+ e IGM-, mas PCR para EBV fortemente positivo. Tomografia de abdome: hepatoesplenomegalia, sinais de fibrose e hipertensão portal e ausência de linfonodomegalias significativas. -Mielograma: Amostra hipocelular, sendo identificados alguns linfócitos grandes granulares. -Imunofenotipagem de MO: Amostra hipocelular. Perfil imunofenotípico apresentando 16% de linfócitos NK (CD2+ CD3- CD4- CD7+ CD8+ CD56+ CD57+). Esses achados são sugestivos de neoplasia de

células NK. -Cariótipo: 46XY, 13pstk + c [30] -Biópsia de medula óssea: Hiper celular, ocupada por células imaturas, de núcleos vesiculosos grandes, podendo corresponder a leucose/linfoma. Concluiu diagnóstico de leucemia/linfoma NK, associado a EBV, em paciente com comorbidades relevantes, tratado com AspaMetDex (L-asparaginase, metotrexato e dexametasona). Obteve melhora das citopenias, da coagulopatia e resolução da febre. No entanto, evoluiu com descompensação hepática, sepse e óbito, no primeiro mês de tratamento. **Discussão:** Conforme descrito na literatura, o linfoma NK extranasal estágio IV/leucemia NK apresenta prognóstico reservado e pobre resposta a quimioterapia, incluindo as antraciclina (devido à expressão de glicoforina P). Os melhores Resultados na literatura são reportados com o esquema SMILE (dexametaxona, metotrexato, ifosfamida, L-asparaginase e etoposide), no entanto, devido a hepatotoxicidade, optamos pelo Aspa-MetDex. O paciente apresentou resposta inicialmente favorável, no entanto, houve descompensação de patologias prévias, culminando com óbito precoce, não permitindo avaliação de resposta.

0436

Citopenia refratária na infância: relato de 4 casos

Luz HR, Azambuja AP, Moreira FB, Odelli L, Justus JL, Sluga Y, Silva N, Beltrame MP, Malvezzi M

Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

Introdução: De acordo com a classificação da Organização Mundial de Saúde, as Síndromes Mielodisplásicas (SMD) são doenças clonais de células-tronco hematopoéticas caracterizadas por citopenias, displasia em uma ou mais linhagens e hematopoese ineficaz com um risco aumentado de desenvolver leucemia mielóide aguda (LMA). As SMD são incomuns em crianças, contabilizando menos de 5% das neoplasias hematopoéticas em pacientes com menos de 14 anos de idade. O diagnóstico da SMD na infância é particularmente difícil, com critérios baseados no exame morfológico de sangue periférico e medula óssea, sendo necessário correlacionar a morfologia com a clínica, citogenética e fenótipo celular para correta interpretação de cada caso. Para enfatizar as diferenças com a SMD em adultos o termo Citopenia Refratária na Infância (CRI) foi introduzido na literatura englobando as características da SMD em crianças. **Objetivo:** Este trabalho relata quatro casos de Síndrome Mielodisplásica primária em crianças atendidas no Hospital de Clínicas da UFPR, evidenciando as características morfológicas, citogenéticas e imunofenotípicas que auxiliaram no diagnóstico e no manejo subsequente dos pacientes. **Resultados:** Paciente 1: sexo feminino, 12 anos, apresentava pancitopenia e infecções de repetição. A análise da medula óssea mostrou 29,2% de blastos da linhagem mielóide e alterações displásicas nas linhagens eritróide, mielóide e monocítica. Citogenética com monossomia do cromossomo 7. Evoluiu com monocitose CD56+ e foi tratada com quimioterapia padrão para LMMJ. Foi submetida a transplante de sangue de cordão umbilical (TSCU) 6/6 não aparentado, porém apresentou evolução para LMA; realizou segundo TSCU sem resposta; continua viva em recaída. Paciente 2: sexo feminino, 7 anos, apresentava pancitopenia e foi diagnosticada com SMD hipocelular, com 3,6% de blastos mielóides e displasia nas linhagens eritróide, mielóide e monocítica. O sangue periférico ao diagnóstico apresentava 12% de monócitos. Foi submetida a transplante de célula tronco hematopoética (TCHP) alogênico não aparentado 10/10, respondendo bem ao tratamento. Paciente 3: sexo masculino, 4 anos foi diagnosticado com Leucemia Mielomonocítica Juvenil (LMMJ), pela presença de 6% de blastos e 51% de monócitos em sangue periférico. A análise de medula óssea mostrou 5,65% de blastos mielóides e alteração displásica nas linhagens eritróide, mielóide e monocítica. Citogenética sem aberrações cromossômicas. Foi submetido à quimioterapia com o protocolo de indução LMA-IO/97, e aguarda doador para TCTH.

Paciente 4: sexo feminino, 13 anos, medula óssea com 16% de blastos mielóides e alterações nas linhagens mielóide, eritróide, compatível com SMD subtipo anemia refratária com excesso de blastos (AREB-2). A análise citogenética mostrou monossomia do cromossomo 7. Iniciou quimioterapia e em segunda análise de medula óssea foram encontrados 22,7% de linhagem monocítica com fenótipo aberrante (CD56 positivo e CD14 negativo). A paciente foi submetida ao TCHP não aparentado 10/10. Está viva e bem. **Discussão:** Descrevemos quatro casos de Citopenia refratária da infância demonstrando associação com a monossomia do cromossomo 7 em dois casos, e presença de monocitose anormal em todos os pacientes. Devido a alta taxa de transformação para LMA, o transplante é a única terapia curativa da doença, sendo que três das 4 crianças descritas apresentaram resposta ao TCTH.

0437

Leucemia de células mastocíticas: relato de um caso e revisão de literatura

Bastos FQ, Carvalho PD, Mariano LC, Aranha MA, Lage LA, Pereira J, Martinez GA

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FM-USP, SP

Introdução: A variante leucêmica da mastocitose sistêmica é rapidamente fatal em contraste com casos não leucêmicos, que seguem um curso clínico indolente. Na leucemia de células mastocíticas, os mastócitos representam 20% ou mais das células nucleadas no aspirado de medula óssea e mais de 10% das células circulantes no sangue periférico. Nesta rara e altamente agressiva forma de mastocitose sistêmica, a biópsia de medula óssea apresenta um infiltrado compacto e difuso, com redução importante do componente gorduroso e de células hematopoiéticas precursoras. Os mastócitos usualmente são atípicos, com citoplasma hipogranular, núcleo irregular, monocitóide ou bilobado (pró mastócitos), e podem ainda se apresentar como blastos metacrômicos, alguns com nucléolos evidentes. **Objetivo:** Relatar um caso de leucemia mastocítica aguda e suas complicações e a partir do caso fazer uma breve revisão sobre o tema. **Métodos:** Paciente de 68 anos, sexo feminino, procurou o serviço médico com quadro de febre e sintomas anêmicos de início há uma semana, sem manifestações hemorrágicas. Estava em investigação há cerca de sete meses de anemia normocítica. Ao exame clínico, evidenciou-se palidez cutânea e hepatomegalia dolorosa. Durante investigação diagnóstica, hemograma mostrou anemia normocítica grave, leucocitose com 34% de blastos e basofilia. Mielograma evidenciou medula óssea hiper celular com 39% de células blásticas e 36% de células com densa granulação basofílica, morfológicamente sugestivas de basófilos, porém quando se realizou imunofenotipagem concluiu-se que tais células eram mastócitos anômalos (CD2+CD25+CD117+), compatível com leucemia de células mastocíticas associada à doença hematológica clonal mielóide. A citogenética mostrou presença de cariótipo monossomal. Em estudo molecular observou-se ausência de mutação de *FLT3* e *NPM1* e *BCR/ABL* negativo. Após quatro dias da internação, paciente evoluiu com choque refratário e óbito. Laudo de autópsia mostrou aneurisma dissecante de aorta com tamponamento cardíaco e hemotórax bilateral. **Discussão:** Leucemia de células mastocíticas é um subtipo extremamente agressivo de leucemia mielóide aguda que geralmente ocorre *de novo*, mas pode, raramente, evoluir a partir da transformação da leucemia mielóide crônica. Em uma pequena proporção de casos, esta doença pode evoluir a partir de uma forma mais progressiva de mastocitose sistêmica. Os infiltrados cutâneos típicos de urticária pigmentosa não estão normalmente presentes ao diagnóstico. Os sintomas incluem dor abdominal, dor óssea e úlcera péptica, que são mais prevalentes que em outros subtipos de leucemia mielóide aguda e são devido à liberação de histamina. Hepatoesplenomegalia é característico.

Os mastócitos liberam anticoagulantes como a heparina, que podem levar a hemorragias graves. Os critérios diagnósticos pela OMS incluem presença de 20% de mastócitos na medula e 10% em sangue periférico. As células leucêmicas geralmente são fortemente positivo para CD13, CD33, CD68, e CD117 e expressam CD2 e CD25. Caracteristicamente, marcadores de basófilos e monócitos estão ausentes. Mastócitos malignos expressam o gene anti-apoptose bcl-2. A mutação kitD816V é detectada na maioria dos pacientes. A quimioterapia com a combinação de citarabina com antracíclico deve ser considerada. Esta doença é extremamente agressiva e tem um prognóstico ruim, com sobrevida média de apenas seis meses.

0438

Padronização no uso do reagente transfixem diagnóstico de leucemias agudas por imunofenotipagem

Santoro JC¹, Ferman S², Marinho AM³, Melaragno R⁴, Magalhães IM⁵, Terra-Granado E¹, Oliveira MS¹

¹ Programa de Hematologia e Oncologia Pediátricas (PHOP), Coordenação de Pesquisa, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Pediatria, Hospital do Câncer, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Setor de Oncologia Pediátrica, Hospital Martagão Gesteira, Salvador, BA

⁴ Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP

⁵ Hospital da Criança de Brasília José Alencar, Brasília, DF

Introdução: O PHOP realiza estudos de etiopatogênese das Leucemias Agudas (LA) Pediátricas, recebendo amostras para caracterização imunofenotípica e molecular de LA provenientes de hospitais de diversas regiões do Brasil. Para a eficácia e qualidade destas análises imuno-moleculares, é necessário que amostras sejam processadas ≤ 48 horas após a coleta. Entretanto, adversidades como atraso no transporte, dificultam as análises sendo necessário muitas vezes a requisição de uma nova amostra. Com base nessas dificuldades, fez-se necessário a busca de Métodos que viabilizassem o aproveitamento de amostras biológicas independentemente do momento da coleta. O reagente TransFix™(TF) é uma solução estabilizante, utilizada na preservação de uma vasta gama de marcadores celulares. Amostras de sangue colhidas com TF são passíveis de serem analisadas por citometria de fluxo por até 10 dias após a coleta. Na revisão de literatura, a utilização do TF se resume aos Resultados descritos em sangue periférico (SP), não tendo sido encontrados Resultados de testes em aspirados de MO. **Objetivo:** Testar a implementação do uso do reagente TF em nossas rotinas, avaliando a concentração ideal de TF, a melhor solução de permeabilização e o tempo após a coleta. Métodos Foi utilizada solução de TF já na presença de EDTA (TransFix™ + EDTA), nas concentrações 1: 5, 1: 10 e 1: 20. As amostras foram tratadas conforme a rotina de marcação para imunofenotipagem. Testes intracelulares foram realizados utilizando diferentes soluções de permeabilização (Tween[®] 20, Saponina e o Kit Citofix/Citoperm da BD), onde foram avaliadas as diferenças nos percentuais de marcação da molécula CD45, dos marcadores de linfócitos B CD22 e CD79, além da marcação de MPO (mieloperoxidase). **Resultados:** Em testes preliminares com amostras de pacientes leucêmicos utilizando-se a concentração indicada pelo distribuidor foram observados baixos percentuais de marcação para alguns antígenos intracelulares. Nesta nossa pesquisa, a concentração 1: 5, apresentou o percentual mais baixo de marcação para MPO em granulócitos. Utilizando-se a concentração 1: 20 foram obtidos os melhores percentuais de marcação, porém, sua utilização ficou inviável, em virtude do processo de coagulação de parte da amostra, ocorrido devido a pequena quantidade de anticoagulante presente nesta concentração. Já a concentração 1: 10 apresentou

bons Resultados de marcação para MPO, não sendo observada coagulação da amostra. Essa concentração foi utilizada na análise das soluções de permeabilização, onde não foram observadas diferenças nos percentuais de marcação para as moléculas investigadas. **Conclusão:** A concentração 1: 10 foi definida como a ideal para amostras em MO, podendo ser utilizado o protocolo de permeabilização com Tween 20. Numa próxima etapa do trabalho, estão sendo avaliadas amostras de MO de pacientes com suspeita de leucemia na concentração 1: 10, após 3 e 7 dias da coleta, à temperatura ambiente e a 4°C. Estes Resultados serão de grande relevância para laboratórios que recebem amostras viajadas, pois permitirão uma análise imunofenotípica de maior qualidade em amostras que chegam aos laboratórios num período superior ao indicado para este tipo de análise.

0439

Aberrant expression of the MLL5, BAALC, ID1, and WT1 genes is associated with higher induction mortality and poorer overall survival in acute promyelocytic leukemia patients treated with ATRA and anthracycline-based chemotherapy

Lucena-Araujo AR¹, Jacomo RH¹, Melo RA², Bittencourt R³, Pasquini R⁴, Pagnano K⁵, Fagundes EM⁶, Chauffaille ML⁷, Chiattonne C⁸, Falcao RP¹, Lo-Coco F⁹, Sanz MA¹⁰, Rego EM¹

¹ National Institute of Science and Technology in Stem Cell and Cell Therapy – INCTC, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HE-MOPE, Recife, PE

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

⁴ Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

⁵ Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

⁶ Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

⁷ Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

⁸ Santa Casa Medical School

⁹ University Tor Vergata, Rome, Italy

¹⁰ Valencia University Medical School, Valencia, Spain

Aberrant expression of *MLL5*, *BAALC*, *ID1*, and *WT1* genes is frequently associated with inferior outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia patients. The expression levels of these genes vary in patients with acute promyelocytic leukemia (APL), but the clinical significance of these findings remains unclear. **Objective:** (1) to determine if the gene expression levels of *MLL5*, *BAALC*, *ID1*, and *WT1* are associated with clinical outcome of APL patients treated with ATRA and anthracycline-based chemotherapy, (2) to generate an integrative score based on these potential prognostic factors and clinical parameters and (3) to use this score for outcome prediction in APL. One hundred and fifty APL patients (range, 15-73y) from seven different Brazilian institutions and treated according to the IC-APL protocol were included. Integer weights for the risk score were derived from Cox proportional hazard model, using overall survival (OS) as outcome parameter. Hazard ratios (HR) for OS were calculated for each variable separately. Variables with $P < 0.05$ in univariate analyses were included in the model. Variables considered for the model inclusion were WBC counts, albumin levels, FLT3 -ITD status and expression levels of *MLL5*, *BAALC*, *ID1*, and *WT1* genes. Other candidates, such as age, platelet count, gender, ECOG performance status, *PML* breakpoint, *FAB* subtype, *IDH1* status and expression levels of *PRAME*, *PIM2* and *ERG* genes were not significant and not included in the score. The HR were converted to integer weights according to the following: variables with $HR \leq 1$ were excluded from analyses; variables with $HR \geq 1$ and ≤ 1.5 were assigned a weight of 1; variables with $HR \geq 1.5$ and ≤ 2.5 were assigned a weight of 2;

variables with HR \geq 2.5 were assigned a weight of 3. The final score was the sum of these integer weights. Based on maximally selected rank statistics, the scores were grouped into 3 risk-groups: 0-6 (low-risk), 7-10 (intermediate-risk), and $>$ 10 (high-risk). The integrative score was modeled in 127 patients (median score: 8; range, 1-17). Laboratory features were similar among patients assigned in the low (n=66), intermediate (n=26) and high-risk (n=35) groups. Overall, 111 (87%) patients achieved CR; the remaining 16 patients (13%) experienced early death due to hemorrhage (n=10), therapy-related infection (n=5) and differentiation syndrome (n=1). Induction mortality was significantly higher in the high-risk group (low: 2% vs intermediate 15% vs high 26%; $P=0.001$). CR was achieved in the low, intermediate, and high-risk group in 97%, 81%, and 74% of the patients, respectively ($P=0.002$). With a follow-up of 24 months among survivors, patients assigned in the high-risk group had a lower 2-y OS rate (63%) compared with those in the intermediate (80%) and low-risk groups (97%) ($P<0.001$). The integrative score was not predictive of relapses ($P=0.351$). Our results show that *MLL5*, *BAALC*, *ID1*, and *WT1* expression levels are associated with clinical outcome in APL. Moreover, the combined analysis of these factors with clinical variables, in particular WBC counts, may become a useful tool for outcome prediction in APL and could be used to identify patients with high-risk of death during induction and shorter OS.

0440

Análise de anormalidades citogenéticas clonais em doenças oncohematológicas: estudo consecutivo de 1052 casos

Kishimoto R¹, Borri D¹, Castro A¹, Fabris C², Fernandes P¹, Figueria S¹, Oliveira D¹, Ratis C¹, Santos M¹, Velloso E^{1,3}

¹ Laboratório de Técnicas Especiais – Genética, Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Hospital Albert Einstein, São Paulo, SP

² Universidade de São Paulo - Instituto de Biociências

³ Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FM-USP, SP

Introdução: O estudo citogenético tem papel primordial no diagnóstico e prognóstico das neoplasias hematológicas. Segundo dados do Mitelman database of chromosome aberrations, até hoje foram descritas 61.570 anormalidades citogenéticas em câncer. **Objetivo:** Descrever as anormalidades citogenéticas mais observadas em um laboratório de citogenética de rotina e sua associação com diagnóstico. **Métodos:** De dezembro de 2007 a maio de 2012, 5173 cariótipos procedentes de 4122 pacientes com suspeita ou portadores de doenças oncohematológicas foram realizados no setor de citogenética do laboratório clínico do Hospital Israelita Albert Einstein. Destes, 1052 (20,33%) mostraram anormalidades clonais e 64 (1,23%) casos de quimerismo. As anormalidades foram categorizadas como: isoladas (1 anormalidade estrutural ou 1 perda de um cromossomo autossômico ou sexual), 2 anormalidades, hiperdiplóide (presença de clone com 47 ou mais cromossomos sem anormalidades estruturais) e complexo estrutural (3 ou mais anormalidades, incluindo uma estrutural). Também foram analisadas a frequência de anormalidades mais recorrentes (isoladas ou não) e a sua associação com o diagnóstico. **Resultados:** A idade média dos pacientes foi de 60 (variando de 0 a 97) anos, sendo 58,07% do sexo masculino. Os diagnósticos das doenças hematológicas quando da detecção das anormalidades clonais foram: LLA (108; 10,27%), LMA (222; 21,10%), LLC (102; 9,70%), LMC (211; 20,06%), Mieloma Múltiplo (29; 2,76%), DMPC (20; 1,90%), SMD (140; 13,31%), outras neoplasias (15; 1,43%) e não definidos (205; 19,49%) casos. A frequência de cariótipos com anormalidades isoladas, 2 anormalidades, hiperdiplóide e complexo estrutural foi respectivamente: 608 (57,79%), 115 (10,93%), 107 (10,17%) e 222 (21,10%). Cariótipos complexos foram mais

observados em LLA (37,03%), MM (37,93%) e LLC (33,33%), seguidos por SMD (24,28%) e LMA (24,32%) e finalmente por DMPC (10,00%) e LMC (3,79%) ($p<0,05$). Cariótipos com anormalidades isoladas foram mais observados em LMC (83,41%) seguida por DMPC (65,00%), LMA (55,40%), SMD (51,42%), e MM (44,82%) ($p<0,05$). As anormalidades mais frequentemente observadas foram: -Y (114, 10,47%), t(1,19) (10, 0,92%), t(3;3) (11, 1,01%), del(5) (91, 8,36%), -5 (7, 0,64%), del(6) (23, 12,11%), del(7) (45, 4,3%), -7 (22, 2,02%), +8 (80, 7,35%), t(8;21) (25, 2,30%), t(9;22) (231, 21,21%), rearranjos/deleção envolvendo o gene *MLL* (37, 3,4%), +12 (26, 2,39%), 13q- (12, 1,10%), t(15;17) (47, 4,32%), inv(16) (11, 1,01%), anormalidade em 17p (19, 1,74%), del(20) (41, 3,76%), rearranjos envolvendo a região 14q32 (18, 1,65%) e outras (219, 20,11%). A t(9;22) foi observada em 202 casos de LMC (87,45%), 13 LLA (5,63%), 2 LMA (0,87%), e 14 não definidos (6,06%). **Conclusão:** as anormalidades citogenéticas mais observadas (cromossomo Ph, anormalidades nos cromossomos 5 e 7, trissomia 8 e nulissomia Y) refletem o predomínio nesta casuística de neoplasias mieloides e de população em faixa etária elevada. Conforme esperado, cariótipos complexos foram mais observados em neoplasias linfóides agudas ou crônicas.

0441

A influência de diferentes meios de cultura livres de soro na geração de células dendríticas para o tratamento imunoterápico de pacientes com leucemia mieloide aguda

Simoneti GS, Fernandes LG, Gilli SC, Saad ST

Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Vacinas com células dendríticas (DCs) podem ser utilizadas como forma de tratamento imunoterápico adjuvante para o tratamento de leucemia mieloide aguda (LMA). Não existe consenso no desenvolvimento de protocolos para sua produção, porém é fundamental o estabelecimento de uma metodologia ideal para seu uso clínico. Um dos pontos importantes no desenho desses protocolos é a suplementação de meios de cultura com soro de origem animal ou humano uma vez que podem ocorrer, xenossensibilização, transmissão de doenças ou comprometimento da diferenciação e função celular. Nesse sentido, vários tipos de meios livres de soro, produzidos em condições (GMP) “good manufacture practice”, têm sido utilizados recentemente. Apesar disso, alguns autores ainda concordam com a necessidade de suplementação sérica desses meios. O objetivo desse estudo foi avaliar os Resultados da diferenciação, maturação e funcionalidade de DCs de pacientes com LMA, produzidas a partir de um protocolo que utilizou meios comerciais livres de soro comparando com o meio RPMI amplamente utilizado na literatura. DCs foram geradas a partir de monócitos do sangue periférico de 3 doadores e 3 pacientes com LMA, em remissão completa pós quimioterapia, diferenciadas com GM-CSF e IL-4 e maturadas com IL-1 β , TNF- α , IL-6 e PGE2. As culturas foram desenvolvidas nos meios RPMI com adição de 5% de soro autólogo, CellGro e X-Vivo 15, ambos livres de soro (*serum-free media*). Para caracterização das DCs foram realizadas análises imunofenotípicas para os marcadores de superfície CD40, CD80, CD83, CD86 e HLA-DR, a viabilidade celular foi analisada através de ensaios de apoptose, utilizando anexina V e iodeto de propídio e a funcionalidade celular foi avaliada através de ensaios de linfoproliferação, fagocitose e quantificação das citocinas IL-10 e IL-12p70. Os Resultados mostraram que foi possível gerar DCs viáveis em todas as condições testadas. Os ensaios funcionais de fagocitose e linfoproliferação não demonstraram diferenças significativas com relação às DCs de doadores e pacientes geradas nos diferentes meios testados. Em pacientes, o meio X-VIVO 15 quando comparado com o meio RPMI suplementado com soro au-

tólogo, demonstrou maior eficiência na geração de DCs produtoras de IL-12p70 ($p=0,05$) e também quando comparado com o meio CellGro ($p=0,05$). Por outro lado, o meio RPMI suplementado com soro autólogo levou a um aumento significativo dos níveis de IL-10 pelas DCs quando comparado com o meio CellGro ($p=0,05$) e X-Vivo15 ($p=0,05$), tanto em pacientes como em doadores. Concluímos que os meios de cultura X-Vivo 15 e CellGro foram eficientes na produção de DCs para fins imunoterápicos em pacientes com LMA. Em contrapartida, o uso de soro autólogo parece interferir na capacidade funcional das DCs geradas e induzi-las a produzir IL-10, uma citocina imunossupressora. (Financiado pela FAPESP)

0442

Resultados do tratamento de pacientes adultos com leucemia mielóide aguda no SUS-DF

Melo AL, Freitas LF, Silveira CA, Neto JV, Pol CP, Daldegan MB, Vasconcelos MC

Hospital de Base do Distrito Federal – HBDF, Brasília, DF

Introdução: Apesar dos avanços no tratamento e suporte de pacientes com Leucemia Mielóide Aguda (LMA), a mortalidade ainda é alta e os fatores determinantes desse insucesso são ainda piores em países em desenvolvimento. O objetivo deste estudo foi apresentar o perfil de pacientes portadores de LMA não promielocítica acompanhados no Hospital de Base do Distrito Federal (HBDF), analisar os desfechos do tratamento e identificar possíveis fatores a eles associados. **Métodos:** coorte retrospectiva, que incluiu todos os pacientes que receberam diagnóstico de LMA no período de janeiro a dezembro de 2011. Os programas estatísticos utilizados foram Graphpad prisma 5.0 e SPSS 19.0. **Resultados:** Identificados 32 pacientes (44% homens e 56% mulheres), com mediana de seguimento de 84 dias (variação: 5 a 450). A mediana de idade foi 57 anos (17 a 77), sendo que 12(37,5%) pacientes possuíam >60 anos e 11(34%) pacientes apresentaram-se com LMA secundária. Em 19(62,5%) casos não havia informação sobre a citogenética. Quimioterapia de indução convencional (QTx) foi aplicada em 25(72%) pacientes, enquanto os demais receberam tratamento paliativo. Havia 13(40%) pacientes com menos de 60 anos e LMA de novo, que foram tratados com QTx. Neste grupo, a taxa de remissão completa (TRC) e a mortalidade no período de indução (PI) foram de 38,4%. Entre aqueles com cariótipo desconhecido, a TRC foi de 50%. Houve correlação estatística entre TRC e leucocitometria $40 \times 10^9/L$ ($p=0,013$), DHL<math><750</math> ($p=0,022$) e plaquetometria >20 mil ($p=0,013$). A sobrevida global (SG) de todos os pacientes foi de 20,6% sendo a SG menor entre os idosos comparativamente com os demais ($p=0,013$). A mediana de sobrevida foi de 83,5 dias, enquanto a sobrevida em 100 dias foi de 46,9%. **Discussão:** A mortalidade no PI foi maior do que a da literatura, que é de 10%, o que pode estar associado a alta prevalência de pacientes idosos e/ou de leucemias secundárias (60%) na população avaliada. A TRC no grupo jovem com LMA de novo foi inferior a da literatura, que é de 60-80%, o que pode estar relacionado a alta mortalidade no PI. A TRC entre os pacientes com cariótipo desconhecido em nosso estudo foi semelhante a da literatura (42%). Leucocitose, plaquetopenia e DHL elevado sabidamente estão associadas a mortalidade precoce e curta sobrevida global, o que pode justificar a baixa TRC observada. A mortalidade global de todos os pacientes no PI foi semelhante a de outros centros brasileiros e de países em desenvolvimento. **Conclusão:** A mortalidade elevada pode estar associada às características de mau prognóstico observadas em nossos pacientes e a dificuldade na oferta de suporte avançado adequado. A ausência de Resultados de citogenética prejudicou a estratificação prognóstica da maioria dos pacientes. Os Resultados encontrados são semelhantes aos de países em desenvolvimento, mas inferiores aos de países desenvolvidos, o que deve motivar investimentos estruturais no cuidado desses pacientes.

0443

Quercetina induz processo autofágico em modelo de xenotransplante de leucemia mielóide aguda

Maso V¹, Junior GCF², Nowill AE², Saad ST¹

¹ Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

² CIPOI, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Compostos polifenólicos, como a quercetina, presente no extrato de própolis, parecem apresentar atividades anti-proliferativa, apoptótica e autofágica em células de leucemia. Autofagia é um processo catabólico conservado evolutivamente de degradação e reciclagem de componentes celulares, através da maquinaria lisossomal. Este processo é essencial para sobrevida, imunidade e apoptose das células. Recentemente, tem sido proposto o papel da autofagia na patogênese de leucemia mielóide aguda (LMA). A via autofágica acontece em três etapas: nucleação/iniciação (fagóforo); sequestro (autofagossomo) e fusão (autofagolisossomo). Esse processo é coordenado por um grupo de proteínas chamadas de ATGs. Beclina-1 (ATG-6) e ligação de ATG5 - ATG12 são as responsáveis pela nucleação. A etapa de sequestro é controlada por ATG8 (chamada de LC3-I), a qual sofre transformação pela ATG7 em LC3-II. Novas abordagens no tratamento de leucemia mielóide aguda requerem uma melhor compreensão desse intrincado mecanismo molecular envolvido na progressão de células malignas. Por isso, o uso de modelos de xenotransplante que mimetizam as interações que ocorrem em um sistema completo são essenciais para esse entendimento. Em vista do exposto, o objetivo deste estudo foi estudar as vias de sinalização envolvidas na possível indução de autofagia pela quercetina. **Métodos:** Células HL-60 foram mantidas em meio IMDM 20% de SBF. Grupo de 6 camundongos imunodeficientes da linhagem NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J (Jackson Lab. USA), foram utilizados. Cada animal recebeu subcutaneamente um total de 1×10^7 células. O monitoramento da formação tumoral foi realizado com o auxílio de um paquímetro, alcançando entre 100 e 200 mm³. O tratamento com quercetina foi realizado a cada 4 dias a uma concentração de 120 mg/Kg (diluído em 40% PEG400 + PBS) via intraperitoneal. O grupo controle recebeu a mesma concentração de diluído. O volume tumoral foi monitorado a cada 7 dias e calculado seguindo a fórmula: C(comprimento) x L²(largura) x. Após 21 dias de tratamento, os tumores foram removidos e submetidos à extração proteica e western blotting. Os seguintes anticorpos foram utilizados: ATG7, ATG5-ATG12, beclina-1, PI3K classe III (Cell signaling) e como controle endógeno foi utilizada actina (Santa Cruz, CA). **Resultados:** Após 21 dias de tratamento com quercetina, observamos redução de 36% no volume tumoral em relação ao controle. Para analisarmos se o processo autofágico foi responsável por essa redução, analisamos as proteínas ATGs que controlam esse mecanismo. Houve aumento da expressão de beclina-1 e PI3K classe III ($p=0,029$ e $p=0,003$, respectivamente), sugerindo eficiente formação do fagóforo. Também detectamos aumento significativo na expressão das proteínas de fusão ATG5-ATG12 ($p=0,0028$) e ATG7 ($p=0,04$), responsável pela clivagem de LC3-I, sugerindo formação do autofagossomo, vesícula característica da autofagia. **Conclusão:** O uso de quercetina em modelo de xenotransplante reduz o crescimento tumoral, com pronunciada ativação do processo autofágico e possível formação de fagossomo e fagóforo.

0444

Leucemia bifenotípica T/mieloide em paciente com ataxia espinocerebelar tipo 3: relato de caso

Rodrigues TF, Manguiera FP, Bezerra AL, Chaves CG, Nóbrega JV, Baracuh LV, Cavalcanti LH, Pimenta FC, Neves FP, Botelho LF

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: A Leucemia Bifenotípica Aguda (LAB) é um subtipo de leucemia em que as células neoplásicas expressam simultaneamente marcadores das linhagens mielóide e linfóide, que são detectados por meio da imunofenotipagem. Trata-se de uma patologia rara, responsável por cerca de 5% dos casos de leucemia em adultos. **Objetivos:** Descrever um caso de LAB T/mieloide em paciente com diagnóstico prévio de Ataxia Espinocerebelar Tipo 3(ACA3) ou Doença de Machado-Joseph(MJD) e mostrar a importância da imunofenotipagem neste tipo de leucemia. **Métodos:** Estudo analítico de um caso a partir de informações coletadas do prontuário médico. **Resultados:** GAS, 34 anos, sexo masculino, natural e procedente da cidade de Pedras de Fogo-PB, foi encaminhado ao Hospital Napoleão Laureano em maio de 2012 para investigação de um quadro de anemia, trombocitopenia e leucocitose, com predomínio de linfócitos de maturação intermediária. As queixas iniciais eram inespecíficas, tais como astenia, palidez e desconforto abdominal há 1 ano, sem sangramentos. Na ocasião, foi apontada a hipótese diagnóstica de Leucemia Linfóide Aguda. O paciente apresentava diagnóstico prévio de Ataxia Espinocerebelar Tipo 3, diagnosticada em 2010 por meio da análise do DNA, através da Técnica de Reação de Cadeia Da Polimerase (PCR), que identificou mutação do gene MJD1 do cromossomo 14, característica desta patologia. Ao exame físico, apresentava-se disártrico, atáxico, com palidez cutâneo-mucosa e hepatoesplenomegalia. Realizou mielograma que evidenciou intensa infiltração da medula óssea, com 95% de blastos de provável origem linfóide, sugerindo diagnóstico compatível com Leucemia Linfóide Aguda. Contudo, a imunofenotipagem de medula óssea revelou células com positividade para antígenos de linhagem mielóide (CD33 e CD117) e Linfóide T (CD3 citoplasmático, CD7 e CD10), diagnosticando-o assim, como portador de Leucemia Bifenotípica T/mieloide. Deste modo, iniciou-se esquema quimioterápico BFM (com Daunorrubicina, Vincristina, Prednisona, L-asparaginase e Metotrexate interateca), interrompido no 15º dia de tratamento devido a neutropenia severa da qual o paciente não se recuperou, evoluindo com sepsis grave e consequente óbito. **Conclusão:** Diante do caso apresentado percebe-se a inespecificidade do quadro clínico das Leucemias Agudas e a importância da realização da Imunofenotipagem para identificação do subtipo de leucemia, de modo que possamos conduzir o paciente para o tratamento adequado.

0445

Importância da associação entre a imunofenotipagem e a citogenética no diagnóstico de paciente com leucose aguda: relato de casoGil EA¹, Oliveira TM¹, Freire JM¹, Leão GD¹, Vasconcelos RC¹, Fernandes AL¹, Serafim ES², Lajus TB³, Junior GBC^{4,5}¹ Laboratório DNA Center de Análises Clínicas² Centro de Oncologia e Hematologia de Mossoró/RN³ Departamento de Pesquisa Translacional Liga contra o Câncer⁴ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, RN⁵ Hemocentro Dalton Barbosa Cunha – HEMONORTE, Natal, RN

Introdução: A leucemia mielóide aguda (LMA) é um grupo heterogêneo de doenças clonais do tecido hematopoético, que se caracteriza pela proliferação anormal de células progenitoras de

linhagem mielóide (mieloblastos), ocasionando produção insuficiente de células sanguíneas maduras normais, com consequente substituição do tecido normal. A LMA é uma doença predominante em adultos mais velhos (> 60 anos de idade). É mais comum no sexo masculino e representa cerca de 15 a 20% das leucemias agudas da infância. Na maioria dos casos não há evidência da influência de fatores genéticos, assim como não há diferenças de incidência entre as raças, ao contrário da leucemia linfóide aguda. As leucemias podem ser classificadas da seguinte forma: pela morfologia e citocímica, complementada pela imunofenotipagem, proposta pelo grupo French-American-British (FAB); pela morfologia, imunofenotipagem e citogenética, proposta pelos grupos MIC(classificação morfológica, imunológica e citogenética) e pela imunofenotipagem, proposta pelo European Group for the Immunological Classification of Leukemias (EGIL). **Relato de Caso:** Em 2009, analisou-se um paciente do sexo masculino com idade de 19 anos, encaminhado ao Centro de Oncologia e Hematologia de Mossoró/RN, com indicação clínica de leucose aguda e histórico de Leishmaniose visceral (calazar). A primeira recidiva ocorreu em junho de 2011, com biópsia de nódulo cervical apresentando, como resultado, neoplasia maligna de células redondas e exame histopatológico de linfoma de grau difuso. Imunofenotipagem - Foi realizada em 2009 no HEMONORTE/RN, através de citometria de fluxo, tendo como interpretação: predomínio de células com expressão de antígenos relacionados com linhagem granulocitária: cCD13, CD33, CD117, HLADR, CD11b. Presença de cerca de 36% de células com antígenos relacionados a células NK (CD16-56). Ausência de expressão para antígenos das linhagens linfóides T e B, megacariocitária, eritrocitária, mieloma múltiplo (CD138) e CD34. **Conclusão:** Perfil imunofenotípico compatível com células precursoras mielóides (LMA-M1). Análise citogenética Realizou-se no laboratório DNA Center/RN, através de bandeamento G em cultura de células de medula óssea, mantidas em meio de cultura a 37°C, por 24 horas. O resultado mostrou o cariótipo alterado e complexo, apresentando: der(15)dd(15p12?), t(11;17)(p24? ;q22?) [15]. **Discussão:** A imunofenotipagem por citometria de fluxo (ICF) tem um papel bem definido como uma modalidade diagnóstica em leucemias agudas, especialmente como uma ferramenta para facilitar as classificações das neoplasias hematológicas. No entanto, a análise citogenética constitui o principal método para avaliar o prognóstico das leucemias agudas. Embora vários autores tenham investigado as implicações prognósticas do imunofenótipo na leucemia mielóide aguda, ainda não surgiu um consenso definitivo quanto ao papel da ICF em prever resposta ao tratamento. **Conclusão:** Relatamos um caso de LMA-M1 com cariótipo complexo e imunofenotipagem compatível com marcadores mielóides. Destacamos a importância da associação da citogenética e a imunofenotipagem realizadas nas células neoplásicas para o diagnóstico, classificação, prognóstico, acompanhamento evolutivo, orientação e monitoração terapêutica e no transplante de medula óssea, além de permitir conhecer e entender a biologia da doença.

0446

Leukemia stem cell markers expression profile in acute myeloid leukemia cell lines

Benício MT, Garcia AB, Falcão RP, Rego EM

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Acute myeloid leukemia (AML) is currently recognized as a stem cell disease. Leukemia stem cells (LSCs) might derive from malignant transformation of hematopoietic stem cells (HSCs), or from progenitors whose self-renewal program has been dysregulated by acquired mutations. As normal HSCs, LSCs are rather quiescent, and this might account for the ineffectiveness of conventional chemotherapy in inducing long-term cure. Thus, to overcome this

chemoresistance, it is of importance to define LSC candidates compared to normal HSC. This study aimed to characterize LSC markers expression profile in the AML cell lines OCI-AML3 (representative of a monocytic AML) and NB4 (representative of a promyelocytic AML). The cell lines were first characterized by flow cytometry for the expression of CD34 and CD38, whose association predicts the stage of myeloid maturation during hematopoietic development, and then for the expression of markers associated to LSC phenotype: CD123 and drug efflux pumps – P-gp, BCRP, LRP and MRP1. A normal bone marrow was also immunophenotypically characterized for the expression of CD34, CD38 and drug efflux pumps, so that the corresponding cell subsets would be further compared. OCI-AML3 cell line was almost exclusively CD34⁺CD38⁺; therefore, these markers were excluded from further analyses. Approximately 76% of cells were CD123⁺, and the expression of drug efflux pumps was evaluated according to the expression of this surface marker. The following profiles were distinguished according to the expression of LSC markers: CD123⁺P-gp⁺ (MRK16 epitope), CD123⁺Pg-P⁻; CD123⁺MRP⁺; CD123⁺LRP⁺; CD123⁺LRP⁻; and no significant expression of BCRP was detected. On the other hand, NB4 cell line was predominantly CD34⁺CD38⁺CD123⁻. Regarding the expression of drug efflux pumps, the following markers identified distinct subsets: P-gp⁺, P-gp⁻LRP⁺, LRP⁻; most cells were MRP⁺ and no significant expression of BCRP was detected. Normal hematopoietic stem cells, in turn, are by definition CD34⁺, thus further analyses were performed taking that into consideration. Regarding surface markers expression in normal bone marrow, the following populations were identified: CD34⁺CD38⁻, CD34⁺CD38⁺; CD34⁺CD123⁻, CD34⁺CD123⁺. Only MRP expression was detected in CD34⁺ from normal bone marrow, though only in very few cells. These results may help shed light on which cell subsets from OCI-AML3 and NB4 cell lines should be functionally assessed for their leukemia-initiating cells potential in comparison to their counterparts derived from normal bone marrow, aiming to identify targets for drug development.

0447

LMA-M3: correlação entre fatores clínicos e laboratoriais com um pior prognóstico

Campos JS¹, Queiroz AM¹, Lobo CL¹, Lima CB¹, Lima ALL¹, Nascimento EM², Boechat TO¹, Aguiar TF¹

¹ Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

² Coordenação dos Programa de Pós Graduação em Engenharia – COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) ou LMA-M3, de acordo com a classificação FAB, corresponde a 10% - 15% das leucemias mielóides agudas (LMA). Este tipo de leucemia apresenta morfologia celular característica com promielócitos anormais, núcleo excêntrico e abundantes granulações no citoplasma. Caracteriza-se também pela presença de múltiplos bastonetes de Auer no citoplasma. Os pacientes com LPA apresentam quadro clínico e alterações laboratoriais compatíveis com coagulação intravascular disseminada (CIVD) e podem evoluir rapidamente ao óbito, devido a fenômenos hemorrágicos. Entretanto, o tratamento com ácido transretinóico (ATRA) associado à quimioterapia, tem demonstrado boa resposta clínica dos pacientes, tornando a LPA uma das leucemias de melhor prognóstico. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi correlacionar o perfil clínico e laboratorial da leucemia promielocítica aguda, no momento do diagnóstico no setor de emergência, com um pior prognóstico e evolução desfavorável da doença (óbito). **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal que avaliou 41 (quarenta e um) pacientes consecutivos que foram diagnosticados com leucemia promielocítica aguda (LMA M3) no

setor de emergência do HEMORIO, no período de fevereiro de 2009 até junho de 2012. Este diagnóstico foi realizado pela hematoscopia do sangue periférico e do mielograma sendo confirmado através do estudo citoquímico e imunofenotipagem leucocitária. O estudo citogenético e a biologia molecular foram realizadas e avaliadas posteriormente não sendo incluídas neste presente estudo. Correlacionamos a evolução desfavorável da doença e, conseqüentemente, o óbito com a idade e o sexo do paciente, a leucometria total, o valor do hematócrito, a contagem das plaquetas, o valor do PDF (produto da degradação do fibrinogênio) e do D-dímero além, da presença de sangramento mucoso. As análises estatísticas foram feitas com uso do *software* R (programa gratuito), através do Modelo de Cox e da árvore de sobrevida, utilizando como desfecho o óbito e as seguintes variáveis independentes já citadas acima. **Resultados:** Os modelos de Kaplan-Meier demonstraram que os fatores de risco relacionados com uma maior mortalidade foram a faixa etária entre 31 e 50 anos e o sexo masculino, a contagem de leucócitos acima de 100.000, o hematócrito menor que 19% e a contagem de plaquetas inferior a 20 mil além da presença de sangramento mucoso como manifestação clínica. O modelo de regressão de Cox foi implementado utilizando como variáveis independentes as mesmas já avaliadas anteriormente. A variável PDF foi a que apresentou a maior associação com o desfecho (óbito) e a árvore de sobrevida corroborou com este resultado apontando um ponto de corte de 160. **Conclusão:** Com este estudo podemos identificar fatores clínicos e laboratoriais que sugerem um pior prognóstico para os pacientes portadores de leucemia mielóide aguda promielocítica no momento do diagnóstico da doença.

0448

Avaliação da expressão da glicoproteína p e da proteína relacionada à resistência a múltiplas drogas nas leucemias agudas no Hemocentro do Rio Grande do Norte

Fernandes AL^{1,2}, Leitão VC^{1,2}, Leitão RL², Gil EA¹, Alves GV^{1,2}, Paiva AS^{1,2}, Oliveira TM¹, Júnior FF², Farkatt IG², Junior GBC^{1,2}

¹ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, RN

² Hemocentro Dalton Cunha- HEMONORTE

Introdução e Objetivos: Um dos mais bem caracterizados mecanismos de resistência às drogas (MDR) nas leucemias agudas são os mediados pela glicoproteína P (GpP) e proteína relacionada a resistência a múltiplas drogas (MRP). Diversos relatos têm demonstrado que a superexpressão dessas proteínas podem ser mediadas pela superexpressão dessas proteínas estão relacionadas com doença refratária e recorrência dessas doenças, sendo menos frequentes nos casos recém diagnosticados. O objetivo deste estudo foi investigar expressão da, GpP e MRP por citometria de fluxo em portadores de leucemia mielóide aguda (LMA) e leucemia linfoblástica aguda (LLA) diagnosticados no HEMONORTE. **Métodos:** Foram analisadas amostras de aspirado de medula óssea oriundas de 292 portadores de leucemias agudas: 147 LMA (133 de novo, 4 casos de recorrência, 6 LMA refratária e 3 LMC-CB mieloide e um caso de LMA secundária) e 145 LLA (130 recém diagnosticadas, 6 refratária e 9 recorrência da doença). As imunofenotipagens foram realizadas por citometria de fluxo com um painel de anticorpos monoclonais constituído por CD1a, CD2, CD3, CD5, CD7, CD8, CD4, CD10, CD19, CD22, CD79a, CD13, CD33, CD14, CD15, CD11b, CD34, CD45, HLADR, CD117, TdT além de GpP e MRP. Paralelamente foram coletadas informações referentes aos pacientes tais como: idade, sexo, e dados laboratoriais além de informações sobre *status* da doença. **Resultados:** Observou-se expressão da GpP em 13/147 casos de LMA e em 19/145 portadores de LLA e da MRP em 5/147 casos de LMA e

em 5/145 portadores de LLA. A co-expressão das duas bombas de efluxo por sua vez foi observada em 2 casos de cada grupo de leucemias. Com relação ao *status* da doença na LMA observou-se que a expressão da GpP em 6 /133 LMA de novo, 1/6 recorrência da doença, 3/6 doença refratária, 2/3 LMC-CB e na LMA secundária. Ainda na LMA a expressão da MRP foi constatada em 3/133 casos de LMA de novo e em 2/6 casos de recorrência da doença. Nos casos de LLA contatou-se a expressão da GpP em 8/133 casos recém diagnosticados, em 5/9 casos de recorrência da doença e todos os casos de doença refratária. **Conclusão:** Os mecanismos que envolvem o fenótipo MDR nas leucemias agudas ainda não foram completamente esclarecidos. Nossos Resultados embora preliminares indicam um provável fenótipo MDR intrínseco as células tumorais destes pacientes. Tais achados demonstram ainda Resultados que a adição desses marcadores na imunofenotipagem parece servir como indicadores de evolução clínica e prognóstico para estas leucemias.

APOIO FINANCEIRO: FAPERN; CNPq

0449

Imunofenotipagem para leucemias agudas em pacientes atendidos no Hemocentro do Rio Grande do Norte, durante o período de 2011-2012

Junior GBC^{1,2}, Leitão VC^{1,2}, Leitão RL^{1,2}, Paiva AS^{1,2}, Leão MD^{1,2}, Júnior FD², Alves GV¹, Maciel JF², Serafim ES², Farkatt IG²

¹ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, RN

² Hemocentro Dalton Cunha- HEMONORTE

A caracterização imunofenotípica tem sido o método preferencial para a determinação da linhagem celular e análise da maturação das células nas neoplasias hematológicas. O desenvolvimento de ampla gama de anticorpos monoclonais e das potencialidades do citômetro de fluxo (CF) têm impulsionado esta área nos últimos anos, permitindo a definição correta da linhagem celular em cerca de 98% dos casos, dado fundamental na definição da abordagem terapêutica. Este estudo teve o objetivo de realizar imunofenotipagens por CF em portadores de leucemias agudas. Foram realizadas imunofenotipagens por CF em amostras de SP e MO procedentes de 112 pacientes com suspeita de neoplasias hematológicas, com um painel de anticorpos monoclonais constituído de antígenos linfóides (CD3, CD5, CD7, CD8, CD4, CD10, CD19, CD22, CD23), mielóides (CD13, CD33), monocíticos (CD14), Plaquetários (CD42, CD62) além de CD34, CD45, HLA-DR e TdT. Paralelamente foram obtidas informações referentes aos pacientes tais como: idade, sexo, cor, além de dados clínicos e laboratoriais tais como a presença de adenomegalia, hepatomegalia, esplenomegalia, cloroma, infiltração no sistema nervoso central, leucometria e citomorfologia. Os Resultados confirmou a presença hemopatias maligna em 84 casos (75%): 44 LMA, 16 LLA (13 de linhagem B e 3 de linhagem T), 23 doenças linfoproliferativas crônicas e 1 caso de síndrome mielodisplásica. Nas LMAs, observou-se um predomínio de indivíduos do sexo masculino, constatando ainda um predomínio de indivíduos com idade superior a 20 anos. Em relação a LLA, houve um predomínio de indivíduos com idade menor que 20 anos, havendo também um predomínio de indivíduos do sexo masculino. Considerando o aspecto clínico-tumoral, observou-se que nas LMAs a hepatomegalia predominou, estando presente em 83,3% dos casos e nas LLAs a adenomegalia generalizada predominou com 73% dos indivíduos. Com relação a classificação morfológica das leucemias agudas, observou-se uma correlação direta entre a classificação FAB e imunofenotipagem nos casos de LMA, com predomínio dos subtipos M1 e M4, não sendo observada essa associação com subtipos imunológicos nos casos de LLA. Apesar do número de casos representar uma pequena amostra para a análise estatística, os autores ressaltam a importância da CF como

método confirmatório ou não para estas neoplasias. O grande desenvolvimento do conhecimento em relação às novos marcadores celulares com um papel funcional definido, como o de enzimas de superfície e nucleares, moléculas de adesão, receptores de citocinas, poderá representar uma nova abordagem permitindo classificação das leucemias em subgrupos “funcionais” contribuindo para um conhecimento crescente da biologia destas neoplasias.

Apoio financeiro: FAPERN, CNPq, PROPESQ/UFRN

0450

Recaída de leucemia promielocítica aguda em sistema nervoso central: relato de caso

Loureiro AD, Cavalcante EM, Simões AA, Fernandes JP, Carreiro VP, Junior JRG, Rohr SS, Yamamoto M, Chauffaille ML

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Introdução: Leucemia promielocítica aguda (LPA) é um tipo de leucemia mieloide aguda (LMA) caracterizada por distúrbios da coagulação, ao diagnóstico e boa resposta ao ácido transretinóico (ATRA) na variante comum t(15,17)^{3,6}. A taxa de cura após introdução do ATRA é de 70% a 85% e a recaída é 30%. Geralmente, respondendo ao resgate com trióxido de arsênio (ATO) (4). O envolvimento extramedular é raro na LPA, mas quando ocorre os sítios mais frequentemente envolvidos são a pele e o SNC3. Quando o SNC está acometido, a apresentação clínica é variável3. **Relato de Caso:** JIL, 60 anos, veio ao Hospital São Paulo em outubro de 2009 por astenia, tontura e sangramento oral há 1 mês. Na admissão: Hb 11g/dL, PLT 48X10⁶/µL e fibrinogênio de 272mg/dL. Sangue periférico com 13% de blastos com grânulos, bastonetes de Auer, 1 a 2 nucléolos e mielograma com 71,3% de blastos com as mesmas características do sangue periférico. Cariótipo sem metáfases, PML-RARa positivo com quebra no bcr3 e a imunofenotipagem (IFT) evidenciou tratar-se de uma LPA (positivos: CD15, CD65parcial, CD13, CD33homogêneo, CD117, CD64). Foi iniciado o protocolo de tratamento IC-APL/LPA (baixo risco), evoluía com remissão completa e pesquisa de PML-RARa negativa após 3 consolidações, em fevereiro de 2010. Em setembro de 2011 o paciente apresentou PML-RARa positivo, sem evidências de recaída hematológica ao mielograma. Foi re-induzido com ATO de janeiro a março de 2012. Evoluía assintomático e na profilaxia do SNC pré-consolidação o LCR revelou 90 células com predomínio linfomononuclear e IFT do LCR foi sugestiva de infiltração de LPA (positivos: CD33forte, CD45moderado, HLA-DRnegativo, CD-14negativo). Realizou QT intratecal com metotrexato, citarabina e dexametasona (MADIT) 2 vezes por semana até normalização do LCR (9 MADIT) e terapia de manutenção com ATO e ATRA e MADIT semanal (6 QTs). Atualmente, encontra-se assintomático sem evidência de infiltração em SNC, em acompanhamento ambulatorial, aguardando doador HLA-compatível em banco de medula óssea. **Discussão:** São considerados fatores de risco para recaída em SNC: leucocitose, idade superior a 45 anos e isoformas com sítio de quebra bcr3 PML-RARa². O benefício da profilaxia no SNC ainda não está bem estabelecido sendo evitado nos pacientes que não apresentam hiperleucocitose e baixo risco de envolvimento do SNC^{2,5}. O tratamento ainda é controverso e consiste na administração de QT intratecal MADIT 2 vezes por semana até negatividade dos blastos no LCR seguido de no mínimo 4 MADIT semanais como consolidação⁵. O TMO alogênico é a terapia com maior potencial curativo para estes pacientes principalmente se realizado após nova remissão molecular⁶. O paciente em questão apresentava como fatores de risco para doença em sistema nervoso central a idade e o sítio de quebra em bcr3 PML-RARa e, quando houve a recaída molecular com envolvimento de SNC, ele se encontrava assintomático. Embora não seja consenso, em caso de recaída de LPA a avaliação de LCR com profilaxia de SNC pode ser benéfica.

0451

ANKHD1 interacts with the proapoptotic protein SIVA and plays a role in the proliferation and stathmin activation of acute leukemia cells

Machado-Neto JA¹, Lazarini M¹, Favaro P^{1,2}, Campos PM¹, Scopim-Ribeiro R¹, Franchi-Junior GC³, Nowill AE³, Costa FF¹, Saad ST¹, Traina F¹

¹ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

² Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, Diadema, SP

³ Centro Integral de Pesquisa Onco-hematológica da Infância - Cipo, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Acute leukemia and solid tumors result from alterations in the essential pathways of cell physiology including apoptosis, proliferation and genome instability. In solid tumors, the proapoptotic *SIVA* protein modulates apoptosis, proliferation, migration and promotes Stathmin inhibition through phosphorylation. Stathmin regulates microtubules dynamics and its hyperactivity confers chromosome instability in leukemia cells. Using two-hybrid assay, we have identified *SIVA* as a binding partner of ANKHD1, an ankyrin-repeat-containing protein. ANKHD1 is overexpressed in acute myeloid leukemia (AML) and acute lymphoblast leukemia (ALL) and has the potential role of regulating multiple cellular functions via their repeat motifs. We thus hypothesized that ANKHD1 and *SIVA* could be involved in leukemogenesis. Expression of *SIVA* was evaluated by qPCR in total bone marrow cells from 22 healthy donors, 42 AML and 21 ALL patients. Leukemia cell lines were used for functional studies. Endogenous protein interaction was verified by immunoprecipitation (IP) and cofocal microscopy. We stably knocked down the endogenous expression level of ANKHD1 or *SIVA* with specific shRNA-expressing lentiviral vector and *in vitro* apoptosis was examined by AnnexinV/PI, cell growth by MTT assay and colony formation, and migration by transwell assays. In addition, we investigated *in vivo* tumor growth; leukemia cells were implanted in the dorsal sub cutis of NOD/SCID mice and tumors were excised, measured and weighed after 15 days. Stathmin activation proteins and apoptotic proteins were evaluated by Western blot. *SIVA* expression was significantly decreased in AML and ALL cells compared with normal cells ($P < 0.05$), a reverse pattern of ANKHD1 expression, when compared with published data. IP and cofocal analyses confirmed that ANKHD1 and *SIVA* interact and co-localize in the cytoplasm of leukemia cells. Functional studies revealed that *SIVA* and ANKHD1 have antagonistic effects on migration, Stathmin activation and *in vivo* tumor growth. *SIVA* silencing resulted in a significantly increased cell migration, Stathmin activation (decreased Stathmin phosphorylation) and augmented *in vivo* tumor growth ($P < 0.05$). On the other hand, ANKHD1 silencing resulted in a significantly decreased cell migration, Stathmin inactivation (increased Stathmin phosphorylation and alpha tubulin acetylation) and reduced *in vivo* tumor growth ($P < 0.05$). Interesting, *SIVA* knockdown resulted in a significant decrease in apoptosis response to UV and daunorubicin induction and a downregulation of proapoptotic proteins p-JNK and BAX, an upregulation of the antiapoptotic protein BCL-XL, but no modulation was observed in proliferation and clonal growth *in vitro*. In contrast, ANKHD1 knockdown resulted in a significant decrease of proliferation and clonogenicity ($P < 0.05$), but no changes were observed in apoptosis *in vitro*. Our data indicate *SIVA* as a tumor suppressor gene in leukemia cells, and *SIVA* downmodulation may contribute to the apoptosis resistance and chromosome instability. ANKHD1 may be an oncogene and its upregulation leads to increased proliferation and generates chromosomal instability through increased Stathmin activation. The results suggest that ANKHD1 inhibits *SIVA* and restoration of *SIVA* expression or inhibition of ANKHD1 may be an attractive approach in leukemia.

0452

Azacitidina e lenalidomida como alternativa de tratamento para leucemia mielóide aguda refratária com t(3;3) -7, DEL 5Q: relato de caso

Bollmann PW^{1,2}, Todaro J^{1,2}, Velloso ED^{2,3}, Bacal NS², Silveira PA², Giglio AD^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP

² Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

³ Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FM-USP, SP

Introdução: A t(3;3)(q21;q26.6); representada pelo gene de fusão RPN1- EVI1, constitui um alteração citogenética recorrente, associada a leucemia mielóide aguda (LMA) ou síndrome mielodisplásica (SMD).

De ocorrência rara, esta entidade possui prognóstico reservado, principalmente quando associada a monossomia do 7 e deleção do 5q. Descreveremos caso de uma paciente com LMA com cariótipo complexo e monossômico, constituído pela t(3;3), associada a monossomia do 7 e del 5q, refrária aos esquemas quimioterápicos de indução e de resgate clássicos para LMA, que atingiu resposta hematológica completa após a administração de azacitidina e lenalidomida. **Relato de Caso:** paciente, feminina 52 anos, com diagnóstico de LMA com cariótipo constituído pela t(3;3), associada a monossomia do 7 e del 5q. Hemograma seis meses antes do diagnóstico demonstrava anemia leve normocrômica e normocítica (Hb 11 g/dl) e neutropenia severa (620/ mm³). Após diagnóstico de LMA mostrou-se refratária aos esquemas idarubicina e citarabina e ao de resgate com altas doses de citarabina e mitoxantrone, permanecendo com 70,4% de células blásticas na medula óssea. Devido a ausência de resposta, recebeu a associação de azacitidina 75mg/m² D1- D5 e Lenalidomida 25mg D6- D19. Ao término do primeiro ciclo apresentou remissão morfológica, sendo realizados mais dois ciclos com o intervalo de 28 dias. Após terceiro ciclo, paciente permanecia em remissão hematológica, houve o desaparecimento da monossomia do 7 e deleção do 5q, permanecendo a translocação 3;3. **Discussão:** A azacitidina e a lenalidomida são agentes empregados no tratamento das SMD, sendo que a lenalidomida nas SMD associadas a deleção do braço longo do cromossomo 5 (del 5q). A associação destas medicações também recentemente foi descritas para tratamento LMA em idosos. No nosso caso, este esquema foi capaz de remitir clones agressivos e provavelmente responsáveis pela transformação leucêmica, induzindo remissão morfológica e permitindo a possibilidade de tratamentos com potencial curativo como o transplante de medula óssea. Deste modo, a associação de azacitidina co lenalidomida deve ser considerada como esquema de resgate em pacientes com LMA refratária e com cariótipo complexo e/ ou monossômicos.

0453

Pacientes adultos com leucemias agudas: experiência da faculdade de medicina do ABC - CEPHO

Vieira FC, Silva IV, Amaro NS, Vieira J, Bigonha JG, Bollmann PW, Bonito DR, Pallotta R, Borducchi DM, Giglio AD

Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP

O tratamento das leucemias agudas em adultos vem requerendo muita atenção por parte dos grupos de onco-hematologistas brasileiros. Objetivando primariamente descrever o perfil epidemiológico e secundariamente descrever as taxas de sobrevida global e sobrevida livre de doença avaliamos os pacientes com diagnóstico de leucemias agudas tratados no serviço de oncologia e hematologia da Faculdade de Medicina da Fundação ABC no período de 2008

a 2012. Um total de 47 pacientes com LMA e 20 com LLA foram analisados em estudo de cohort retrospectivo de corte transversal. Tal estudo permite concluir que em nosso meio devemos avaliar as taxas de óbito na indução, consolidação e intensificação incluindo as indicações e tempo para encaminhamento para transplante de medula óssea das instituições e comparar com os dados da literatura mundial. A necessidade de um diagnóstico precoce, factibilização e agilização de encaminhamento para uma unidade de referência para um tratamento adequado se torna imperioso

0454

Avaliação cromossômica, molecular e imunofenotípica em 79 casos de leucemia mielocítica aguda

Oliveira LZ, Rodrigues JN, Brites PC, Motta JR, Cavalheiro PB, Lafayette TC, Chiesa J, Pereira DV, Côser VM, Pereira WV

Serviço de Hematologia-Oncologia, Hospital Universitário, Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS

Introdução: A leucemia mielóide aguda é uma doença heterogênea, que representa cerca de 20% das leucemias agudas em crianças e adolescentes e 80% em adultos. As taxas de sobrevivência atingem cerca de 60% para crianças quando tratadas em ensaios clínicos em países desenvolvidos. Os avanços têm sido realizados para melhor classificação de risco e adaptação da terapia com base na resposta de cada paciente. A identificação das anormalidades moleculares está sendo alvo potencial de novas terapias. **Objetivo:** Descrever os aspectos citogenéticos, moleculares e imunofenotípicos dos pacientes com LMA diagnosticados no Serviço de Hematologia-Oncologia do Hospital Universitário de Santa Maria durante o período de maio de 2010 a maio de 2012. **Resultados:** Foram analisados 79 pacientes, 21 pediátricos (62% masculinos e 38% femininos) e 58 adultos (40% masculinos e 60% femininos), com idades entre 0,9 e 20 anos (mediana de 13 anos) e 23 e 91 anos (mediana de 50 anos), respectivamente. Quanto ao subgrupo FAB dos pediátricos: M2(5/21); M3(7/21); M4(2/21); M5(4/21); M6(1/21); M7(1/21) e não classificados (1/21); subgrupo FAB dos pacientes adultos: M1(2/58); M2(22/58); M3 (13/58); M4(9/58); M5(8/58); M7(1/58) e não classificados(3/58). Risco citogenético (MRC 2010) e presença de marcadores não mielóides para os pacientes pediátricos, excluindo LMA-M3: risco favorável 5/14: 2 inv(16) e 3 t(8;21), 2 com co-expressão CD56; risco intermediário 7/14: 1 trissomia do 8, 4 11q23 (2 co-expressão CD7) e 2 cariótipos normais (1 co-expressão CD56); risco desfavorável 2/14 cariótipos complexos. Para os pacientes adultos risco citogenético e presença de marcadores não mielóides, excluindo LMA-M3: risco favorável 4/45: 2 inv(16) (1 co-expressão CD19) e 2 t(8;21) (1 co-expressão CD56); risco intermediário 27/45: 2 trissomia do 8 (1 co-expressão CD56), 1 del(15q), 1 del(19p), 1 monossomia do 18 e 22 cariótipos normais (co-expressão: 6 CD56; 4 CD7; 2 CD19); risco desfavorável 6/45: 1 cariótipo complexo, 1 monossomia do cromossomo 21, 1 t(6;9), 1 add(7p), 1 monossomia do 7 e 1 t(3;17) e 8/45 não realizados. A Leucemia Promielocítica Aguda (LPMA) foi encontrada em 7/21(33%) dos pacientes pediátricos e 13/58 (22%) dos pacientes adultos. Entre os pediátricos, observou-se co-expressão do CD7 em um paciente e *FLT3*-ITD+ em outro. Entre os adultos detectou-se um com co-expressão de CD19 e CD2 e dois *FLT3*-ITD+. Dentre os pacientes pediátricos, as análises imunofenotípicas e citogenéticas foram realizadas em 100% dos pacientes e por biologia molecular em 86% dos pacientes. Os Resultados foram 33% com fenótipos aberrantes, 90% com alterações cromossômicas e 32% com alterações moleculares. Dentre os adultos, as avaliações imunofenotípicas, citogenéticas e de biologia molecular foram realizadas em 85% e destes, 32% apresentaram fenótipos aberrantes, 56% alterações cromossômicas e 26% alterações moleculares, respectivamente. **Conclusão:** Os estudos de imunofenotipagem, citogenética e análise molecu-

lar são importantes e complementares para identificar fenótipos aberrantes que auxiliam a definir prognóstico, detecção de doença residual mínima e evolução clonal, possibilitando assim, estabelecer melhor escolha terapêutica.

0455

O desafio hematológico da leucemia plasmocitária

Campos FC, Martins AV, Araujo LT, Oliveira AG, Zouain DS, Oliveira JM, Oliveira HM, Lopes MS, Cruz PF

Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG

Introdução: A leucemia plasmocitária (LP), diagnosticada com base nos critérios de Kyle (circulação de células plasmocitárias no sangue periférico de no mínimo 20% e/ou circulação absoluta de 2x10⁹/l plasmócitos com evidência de gamopatia monoclonal) pode ser primária, sem evidência prévia de doença da célula plasmocitária; ou secundária, quando emerge no contexto de um mieloma múltiplo pré-existente. **Relato de Caso:** M.A.B.D., 51 anos, feminino, apresentava-se a admissão com perda da acuidade visual bilateral, osteopenia e perda ponderal, sem acometimento de outros órgãos. Estudo do cariótipo evidenciou t(9,22). Evolução: Há três meses em tratamento, paciente recuperou campo visual e negativo PCR para *BCR ABL*. Intercorreu com infiltração óssea de mmii pela doença e herpes zoster. Atualmente, em terceiro ciclo de quimioterapia. **Conclusão:** A LP é uma doença rara e incurável, de acometimento ósseo, renal, hepático e esplênico, com rápido declínio do *status performance* e progressão para estágio terminal. Embora a LP Primária responda ao tratamento inicialmente, a sobrevivência geral permanece de 8 meses. Não há descrição prévia em literatura de presença de cromossomo *philadelphia* em associação com LP.

0456

Linfoma de Hodgkin x linfoma/leucemia de células T do adulto: relato de caso

Silva CE, Ono S, Jaszak JE, Kussumi VM, Simmer F, Lima CB, Soares A, Araújo AC, Souza L, Lyrio R

Hospital Universitário Pedro Ernesto - HUPE, Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, Rio de Janeiro, RJ

P.J.C.P, 50 anos, masculino, solteiro, técnico de informática, natural do Rio de Janeiro, morador de Vila Isabel-RJ, tabagista de 27 maços/ano, procurou atendimento com otorrinolaringologia em 2011 com relato de linfonodomegalia cervical bilateral, indolor, associada a tosse seca, hiporexia e sudorese noturna. Foi solicitado ultrassom de região cervical que confirmou a adenopatia, sendo encaminhado ao serviço de Pneumologia do HUPE. Em Julho de 2011, foi realizada biópsia de um dos linfonodos e encaminhado ao serviço de Hematologia devido a diagnóstico de Linfoma de Hodgkin Esclerose Nodular (CD30+, CD15+, CD20+, CD3-, EBV+). Biópsia de medula óssea em 26/07/11 com ausência de malignidade e tomografias de estadiamento EIIIB, IPS: 4, sem doença Bulky (linfonodomegalia cervical bilateral, mediastinal e em cadeia ilíaca). Iniciada quimioterapia sistêmica (ABVD) em 12/08/2011 até 15/12/2011, totalizando 5 ciclos completos, com tomografias de controle em 17/12/2011 com resposta parcial (linfonodomegalia cervical de 1,4cm e mediastinal e ilíacos limitrofos), com posterior abandono do tratamento por problemas pessoais (morte de familiares em acidente automobilístico). Retornou em Abril de 2012 devido à piora das linfonodomegalias cervicais, náuseas, vômitos, lesões cutâneas violáceas e descamativas em glúteos e retorno da sudorese noturna. Ao exame, foram evidenciadas hepatomegalia de aproximadamente 6cm abaixo do rebordo costal direito e adenomegalias cervical de 5cm, axilar de

4cm e inguinal de 4cm, todas bilaterais. No hemograma de readmissão, foi identificada leucocitose de 422 000cels/mm³, com 90% de linfócitos típicos. Nesta ocasião foi submetido a três sessões de leucoaférese e enviado material para exame de imunofenotipagem de sangue periférico, compatível com leucemia/linfoma T do adulto, além de hematoscopia de sangue periférico com presença de 'flower cells'. Sorologia positiva para HTLV 1. Solicitada revisão de peça do diagnóstico inicial, com confirmação de Linfoma de Hodgkin em 2011. Iniciado protocolo com HyperCVAD no dia 27/04/12. Aferida febre no primeiro dia do tratamento, sendo iniciado cefepime que foi mantido por 14 dias. Houve piora das lesões cutâneas, e feita biópsia de pele, com crescimento de hifas sendo iniciado fluconazol em dose terapêutica. No D16 de QT apresentou recrudescimento da febre e hipotensão, sendo colhidas hemoculturas e iniciados Meropenem e Vancomicina. Evoluiu com insuficiência respiratória aguda devido à broncoespasmo refratário às medidas terapêuticas e parada cardiorespiratória por hipoxemia e óbito. Hemoculturas positivas para *Pseudomonas* Produtoras de Carbapenemase após 3 dias do óbito.

0457

Uma nova ferramenta para detecção de doença residual mínima na leucemia linfoblástica aguda de precursor B por citometria de fluxo em 8-cores

Pureza AL¹, Oliveira E¹, Maurell MF¹, Aranha D¹, Maia SF², Bueno AP^{1,3}, Rouxinol S², Costa ES^{1,3}

¹ Núcleo Transdisciplinar de Saúde da Criança e do Adolescente, Instituto de Puericultura e Pediatria Matargão Gesteira – IPPMG, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

² Serviço de Hematologia Pediátrica, Hospital da Lagoa, Rio de Janeiro, RJ

³ Serviço de Hematologia Pediátrica, Instituto de Puericultura e Pediatria Matargão Gesteira – IPPMG, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A detecção de doença residual mínima (DRM) é um fator prognóstico independente na leucemia linfoblástica aguda (LLA) da infância. Atualmente, a quantificação de DRM é utilizada para decisão do esquema terapêutico mais adequado para cada paciente. A DRM consiste na quantificação de células neoplásicas persistentes em pacientes considerados em remissão morfológica. Nas LLAs de precursor B (LLA-PrecB), a distinção entre células malignas e normais é mais complexa em amostras de medula óssea em recuperação, quando a hematopoiese normal está sendo reconstituída e exige grande experiência do operador. A imunofenotipagem por citometria de fluxo multiparamétrica (CFM) é um dos principais Métodos para monitoramento dos pacientes por DRM. Portanto, este estudo investigou por CFM a cinética da recuperação medular normal em conjunto com a avaliação da DRM em pacientes portadores de LLA-PrecB utilizando duas novas estratégias: a) painel de 8-cores, b) a Análise dos Componentes Principais (PCA), ferramenta estatística que tem por finalidade a análise dos dados visando sua redução, eliminação de sobreposições e a escolha das formas mais representativas de dados através de combinações lineares das variáveis originais. Esse estudo visa propor uma nova ferramenta que permita distinguir com maior segurança as células patológicas das células normais, para tornar a análise menos dependente da experiência do operador do citômetro. **Métodos:** Neste estudo descritivo foram avaliadas por CFM 125 amostras de medula óssea de 25 crianças com diagnóstico de LLA-PrecB, com idade entre 0 e 8 anos, em tratamento com o protocolo BFM 2002 no período de 2011 a 2012. Crianças sem doença hematológica ou com suspeita de doença hematológica não confirmada, que apresentaram indicação para aspirado de medula óssea (n=5), foram incluídas como controles não-neoplásicos. As amostras foram analisadas ao diagnóstico, 8º dia, 15º dia, 33º dia,

14ª semana e 25ª do tratamento. O teste de hipótese de Kruskal-walis, calculado no programa SPSS, foi utilizado para a avaliação do comportamento da recuperação medular e a detecção de doença residual mínima foi avaliada através da ferramenta estatística PCA utilizando o *software* de análise de dados Infinity. **Resultados:** Foi possível identificar o predomínio de células B maduras normais, com significância estatística nas etapas iniciais do tratamento (15º e 33º dia – p<0,0001), enquanto que na 14ª semana e na 25ª semana foram predominantes a presença de células B precursoras e intermediárias (p<0,0001). Através da análise do PCA em uma etapa foi possível evidenciar as células neoplásicas em 72,2% das amostras diagnósticas. Em 16,7% das amostras as células patológicas se sobrepunham à curva de maturação normal e só foram identificadas em uma segunda PCA. **Conclusão:** A análise de DRM através da utilização do PCA mostrou grande eficácia na identificação precisa das células neoplásicas, conferindo uma boa ferramenta de estudo para a análise de DRM, uma vez que foi possível distinguir com precisão as células patológicas do compartimento normal dos pacientes portadores de LLA-PrecB, de forma independente da experiência do operador do citômetro.

0458

Leucemia mioelode aguda e pioderma gangrenoso: relato de caso

Lima JM, Melo AL, Freitas LF, Silveira CA, Faria CP, Vasconcelos MC, Sousa AC

Hospital de Base do Distrito Federal – HBDF, Brasília, DF

Pioderma gangrenoso é em uma dermatose incomum e idiopática, de baixa incidência, três a dez casos por milhão de habitantes por ano. Acomete mais as mulheres, tipicamente entre a terceira e a sexta década de vida. É frequentemente associado a uma doença de base. Patologias hematológicas são encontradas em até 20% dos casos. A associação com doença maligna, mais comumente hematológica, ocorre em 7%. O primeiro relato da associação com leucemia foi feito por Maldonado e colaboradores em 1968. Distúrbios mieloproliferativos, gamopatia monoclonal, mieloma, leucemia mioelode aguda e crônica, leucemia linfoblástica aguda e policitemia têm sido relatadas associadas ao pioderma gangrenoso. **Relato de Caso.** Mulher de 41 anos, lavradora, admitida no nosso serviço com história de astenia, febre diária, cefaleia, mialgias e lesões cutâneas há um mês. Sem história de patologias ou cirurgias anteriores. Apresentava várias lesões ulceradas, de bordos elevados, eritemato-violáceos, com conteúdo necrótico central, em vulva, região perianal e membros inferiores. Observando-se ainda pancitopenia. A morfologia e a imunofenotipagem demonstraram ser uma leucemia mioelode aguda promielocítica, variante microgranular, e foi iniciado o tratamento conforme o protocolo do grupo PETHEMA. Concomitantemente, estabeleceu-se o diagnóstico das lesões cutâneas como pioderma gangrenoso. Isso ocorreu após avaliação dermatológica e biópsia das lesões, com histopatológico inespecífico, afastando outras etiologias. Foi iniciada a terapêutica com glicocorticoide 1mg/kg de peso há pelo menos quatro semanas, com regressão das lesões. Até o momento, a paciente continua o tratamento, evoluindo bem. **Discussão.** O pioderma gangrenoso pode ocorrer durante sua evolução ou simultaneamente à doença hematológica, como no nosso caso. As características das lesões em nosso relato corresponderam à apresentação clássica em que surgem lesões, inicialmente nodulares, que evoluem rapidamente para uma ou mais ulcerações com bordos escavados, violáceas, de base necrótica e hemorrágica, circundadas por halo eritematoso, de tamanho variável. Pode ocorrer em qualquer área do corpo, com predileção por membros inferiores e face, assim como na literatura, foram descritas lesões em pernas e pé, mas também em região genital e perianal, apresentação mais frequente em lactentes. O diagnóstico é baseado

na historia clinica e na morfologia da lesão. O exame histopatológico não demonstra elementos característicos, sendo também inespecífico no nosso caso. Em formas disseminadas e progressivas, como a descrita aqui, o tratamento de primeira linha preconizado constitui-se de altas doses de corticóides sistêmicos. O tratamento costuma ser longo, até 10 semanas. Não é indicado o debridamento cirúrgico, dispensado em nosso caso, devido ao fenômeno de patergia. Considerações Finais. O pioderma gangrenoso é uma doença rara geralmente associada a outras doenças, dentre elas, as hematológicas, apresenta uma evolução crônica necessitando tratamento prolongado e de pior prognóstico quando associado à leucemia mieloide aguda.

0459**Sarcoma granulocítico em paciente com neoplasia mielóide associada a terapia**

Santos FN, Perini GF, Bautzer VR, Macedo EM, Oliveira EA, Santos FP, Lima MM, Bezerra AM, Nascimento CM, Hamerschlak N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Neoplasias mieloides associadas a terapia (t-NM) são um grupo heterogêneo de desordens clonais da célula tronco hematopoietica que são diretamente relacionadas a quimioterapia citotóxica e/ou radioterapia prévia. A cladribina, um análogo sintético da Purina, inibe a enzima adenina deaminase, interferindo com a síntese de DNA celular. Leucemia mielóide como malignidade secundária após terapia para tricoleucemia com cladribina é extremamente raro, com poucos estudos publicados até a presente data. Apresentamos um caso de leucemia mielóide aguda (LMA) secundária com envolvimento cutâneo em um paciente tratado com cladribina. Caso clínico: Paciente masculino, 57 anos, assintomático, apresentando pancitopenia em 2007. Abiopsia de medula óssea mostrava células linfóides atípicas, compatíveis com forma variante de Tricoleucemia. Neste momento o paciente foi tratado com 2 ciclos de cladribina e alcançou resposta completa. Persistiu em remissão completa por 5 anos, sem nenhuma evidência de doença. Em 2012, o paciente foi admitido com febre, mialgia e odinofagia há uma semana. A análise do sangue periférico mostrava 14% de blastos mielóides e a medula óssea tinha 20% de blastos mieloperoxidase positivo. O diagnóstico de LMA relacionada a terapia foi feito. O cariótipo foi analisado através de citogenética convencional e mostrou deleção 7q. Testes moleculares para *FLT3*, *NMP1* e *BRAF* foram negativos. O paciente foi tratado com terapia de indução composta por citarabina 200mg/m² x 7d, Daunorrubicina 90mg/m² x 3d e cladribina 5mg/m² x 3 dias (CLAG-M), alcançando remissão completa após o primeiro ciclo. Durante a primeira consolidação com altas doses de citarabina, o paciente apresentou nódulos eritematosos dolorosos em extremidades. Abiopsia do local foi feita e mostrou infiltração leucêmica (leukemia cutis). O paciente foi submetido a transplante alogênico não aparentado de medula óssea e persiste em remissão. **Discussão:** Vários estudos tem mostrado uma excelente resposta em pacientes com Tricoleucemia tratados com cladribina. Contudo, estes pacientes tem alto risco de neoplasias secundárias, em particular tumores sólidos e neoplasias linfóides. LMA secundária a tricoleucemia é um evento raro: uma pesquisa no Pubmed com os termos "cladribina" e "leucemia secundária" mostrou não mais que 4 casos descritos. Devido a rara incidência de tricoleucemia e, mais raro ainda, a incidência de LMA secundária, um acompanhamento destes pacientes com tricoleucemia não consegue estabelecer uma conexão inquestionável. LMA seguida do uso de cladribina com a monossomia do 7, é um achado usualmente associado com agentes alquilantes/radiação. Além disso, o paciente apresentou um curso extremamente agressivo, com progressão da doença extramedular durante quimioterapia.

0460**Leucemia de células plasmáticas e leucemia mieloblástica - eventos sequenciais de transformação neoplásica: relato de caso**

Dameto AP, Ikoma MR, Colturato VR, Marques C, Penitenti M, ConTE JE, Souza MP, Mattos ER, Zago LB, Mauad MA

Fundação Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP

As leucemias associadas a terapêutica de outras neoplasias geralmente ocorrem após o término do tratamento. O caso descrito mostra a emergência da leucemia aguda em vigência do tratamento da doença clonal plasmática, podendo tratar-se de outra lesão molecular, não relacionada à terapêutica. Paciente de 55 anos, gênero feminino. Queixas: tosse seca há 1 mês, astenia progressiva. Ao hemograma: Hb: 8,4 a/dL Ht: 26% Leucócitos: 28200/ uL (bastonetes: 1%, segmentados: 16%, linfócitos: 41%, monócitos: 17%, plasmócitos: 1%, plasmoblastos: 24%), Plaquetas: 129000/ uL, rouleaux de hemácias. A medula óssea (MO) apresentava 70% de plasmócitos displásicos com imunofenótipo (IMF) de tamanho grande e alta complexidade, expressão dos marcadores CD45+, CD38++, CD56+ (42%) e sem expressão dos marcadores CD19, CD20, CD117, Kappa e Lambda citoplasmáticos. Radiografia ds esqueleto mostrava fratura de L1 e redução de espaço T12-L1. À eletroforese de proteínas séricas havia elevação policlonal de gamaglobulinas; Imunofixação em urina 24 horas: precipitação de cadeias Kappa e Lambda; β2 microglobulina: 4,6 mg/L (normal abaixo de 2,4 mg/L); DHL: 221 U/L (normal até 200 U/L); cálcio sérico: 8,6mg/dL; uréia: 30mg/dL; Creatinina: 1,1 mg/dL Diagnósticada Leucemia de Células Plasmáticas biclonal, realizou 3 ciclos de protocolo Ciclofosfamida/Dexametasona/Talidomida e Pamidronato, sem resposta (64% de plasmócitos em MO). Associado Bortezomib ao protocolo anterior, com boa resposta após 2 ciclos, sem doença residual mínima (DRM) pelo IMF, normalização da eletroforese de proteínas séricas, sem informações sobre a imunofixação urinária. Realizou 4 ciclos desse protocolo. Na avaliação pré transplante autólogo de medula óssea apresentava Hb: 13,5 g/dL Ht: 39% Leucócitos: 8800/ uL com 20% de blastos em sangue periférico Plaquetas: 76000/ uL. A MO mostrou infiltração maciça por células de tamanho intermediário a grande, grânulos citoplasmáticos grosseiros e bastonetes de Auer. Pelo IMF apresentava 89,5% de blastos com tamanho e complexidade intermediários a grandes, expressando CD45+, CD117+, CD38+, HLA-DR +/- parcial (9%), CD13+, CD33+, CD71+, MPO+++.

Sem expressão dos marcadores CD79a, CD19, cKappa, cLambda, CD56, CD34, CD36, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD7, CD61. Os plasmócitos apresentavam tamanho e complexidade intermediários, com expressões de CD38++, CD19+, CD45+, cKappa(66%), cLambda(34%), sem expressão de CD56, portanto em remissão da doença plasmocitária. Diagnosticada Leucemia Mieloblástica, com fenótipo sugestivo de Promielocítica. Iniciou tratamento com ATRA 45mg / m²/ dia associado à Idarubicina 12mg/ m² D2 D4 D6 D8., pela urgência antes do resultado da pesquisa de PML-RARA, que resultou negativa. Foi a óbito por sangramento de sistema nervoso central após o protocolo de indução. Discutimos a possibilidade de haver alteração gênica primária de células tronco com diferenciação para ambas as linhagens acometidas, e que com o controle da linhagem plasmocitária, a linhagem mielóide iniciou seu processo proliferativo.

0461**Impacto do clareamento de blastos no sangue periférico durante quimioterapia de indução na sobrevida de pacientes com leucemia mielóide aguda**

Santos FN, Lima MM, Santos FP, Macedo EM, Oliveira EA, Bautzer VR, Hamerschlak N, Nogueira IE, Helman R

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Leucemia mielóide aguda (LMA) é uma neoplasia maligna heterogênea, cujo prognóstico depende de inúmeros fatores, destacando-se idade cariótipo e presença de alterações moleculares. Na leucemia linfóide aguda a velocidade de desaparecimento dos blastos em sangue periférico (SP) durante quimioterapia de indução tem importância prognóstica, porém existem poucos estudos avaliando o papel desta variável no prognóstico da LMA. Levantamos os dados de 82 pacientes com diagnóstico de LMA vistos de 1999 a 2012 no Hospital Israelita Albert Einstein. Analisamos o tempo de clareamento de blastos em SP destes pacientes e sua relação com tempo de sobrevida e taxa de remissão completa. Dias para clareamento de blastos em SP foi definido como o primeiro dia sem blastos presente na circulação. Sobrevida livre de eventos foi definida da data do diagnóstico até a data de óbito ou de recidiva da doença, sobrevida livre de doença estimada da data de remissão até a recidiva ou óbito, e sobrevida global do diagnóstico até o óbito. Desfechos tempo para evento foram estimados através do método de Kaplan Meier e Hazard Ratios (HR) estimados pelo método de Cox. Dos 82 pacientes analisados 22 tinham dados incompletos de seguimento e avaliação diagnóstica, 10 pacientes não tinham blastos em SP e 4 pacientes persistiram com blastos em SP durante toda a quimioterapia de indução (todos foram refratários a quimioterapia de indução). Restaram, portanto, 46 pacientes para análise. A mediana de idade era 59.5 anos (variação 9-80 anos), e 67.3% eram do sexo masculino. História prévia de síndrome mielodisplásica estava presente em 22% dos casos, e 17% tinha neoplasia mielóide pós-terapia. A maioria dos pacientes foi tratada com esquema 3+7 (74%) durante indução. A mediana de dias para clareamento dos blastos foi 4.5 dias (1-31 dias), e a taxa de resposta completa (RC) foi 74% (IC 95% 60%-87%). Analisando-se diversos pontos de corte do número de dias de desaparecimento de blastos, determinamos que 7 dias era o melhor preditor de diferença de sobrevida. Vinte e quatro por cento dos pacientes tiveram clareamento superior a 7 dias. Nestes pacientes, a taxa de RC foi 63%, *versus* 77% no grupo com clareamento ≤ 7 dias ($p=0.37$). A mediana de sobrevida livre de eventos foi 205 dias no grupo de clareamento rápido *versus* 88 no grupo de clareamento lento (HR=2.35, $p=0.03$, IC95% 1.05-5.28). A mediana de sobrevida global foi 639 dias no grupo de clareamento rápido, e 285 dias no grupo de clareamento lento (HR=2.78, $p=0.13$, IC95% 0.78-6.47). Para sobrevida livre de doença, o melhor corte foi 6 dias. Dentre os 34 pacientes que entraram em RC, aqueles que clarearam os blastos em até 6 dias tiveram uma sobrevida livre de doença superior (mediana 262 dias vs. 114 dias, HR=3.00, $p=0.035$, IC95% 1.07-8.36). Em nossa coorte de pacientes, os desfechos de sobrevida livre de eventos e livre de doença foram superiores nos pacientes que tiveram rápido clareamento de blastos do SP, com tendência a sobrevida global inferior nos pacientes com clareamento lento. Devido ao número limitado de pacientes, não foi possível realizar análise multivariada. Estudos prospectivos e com maior número de pacientes são necessários para validar a velocidade de clareamento de blastos em SP como fator prognóstico em LMA.

0462

Infiltração de nervo óptico em leucemia linfóide aguda

Ikeda A¹, Cantadori L¹, Martins G¹, Adolfo B¹, Marqui L¹, Gaiolla R¹, Resende L¹, Resende LA², Souza D², Niêro-Melo L¹

¹ Hematologia, Faculdade De Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – FMB-UNESP, BOTUCATU, SP

² Neurologia, Faculdade De Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – FMB-UNESP, BOTUCATU, SP

Introdução: A invasão do sistema nervoso central (SNC) na leucemia linfóide aguda (LLA) é comum, porém, o acometimento de nervo óptico isolado é pouco frequente, sendo este considerado um

santuário leucêmico. **Objetivo:** Relatar caso de LLA que apresentou recaída em nervos ópticos precedendo a recaída líquórica e medular. **Métodos:** Estudo clínico-laboratorial retrospectivo do caso. **Resultados:** Masculino, branco, 20 anos, portador de LLA-T, risco intermediário, encontrava-se no D33 da fase II de reindução (protocolo BFM), com doença residual mínima negativa, quando evoluiu com dor supraorbitária e amaurose à D. LCR normal; TC crânio: sem alterações; TC órbitas: discreto espessamento de nervo óptico D. Feita hipótese diagnóstica de neurite óptica retrobulbar, sendo iniciada pulsoterapia com solumedrol seguida por prednisona, mantendo-se a quimioterapia sistêmica. Realizada RM de órbitas, compatível com neurite óptica direita. A não melhora da visão à D e a diminuição da acuidade visual à E, orientaram para a realização de plasmáferese (5 sessões), seguida de radioterapia de sistema nervoso central (SNC). O paciente evoluiu com infiltração líquórica pela LLA simultaneamente à recaída da doença na medula óssea. Iniciado protocolo hyperCVAD e quimioterapia intratecal, encontrando-se no D12 do 1º ciclo B do esquema, estando estável, porém sem melhora visual. **Discussão:** A penetração inadequada das drogas anti-leucêmicas no SNC leva a recaídas das LLA nesse sítio. Atualmente, a sobrevida dos pacientes com LLA aumentou, propiciando maior número de recaídas da doença em SNC. Embora a quimioterapia intratecal seja protocolar na LLA, alguns estudos sugerem que a mesma pode não ter penetração adequada no nervo óptico. A modalidade terapêutica de escolha nos casos de infiltração de nervo óptico em LLA seria a associação de quimioterapias sistêmicas e intratecal + radioterapia.

0463

Diagnóstico diferencial de leucemia mielóide aguda com presença de basófilos: relato de caso

Moreira FB, Odeli L, Luz HR, Beltrame MP, Azambuja AP

Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

Introdução: As doenças malignas primárias envolvendo basófilos, como a leucemia basofílica aguda, são condições raras. No entanto, a basofilia de sangue periférico e medula óssea pode acompanhar outras condições hematológicas, como a Leucemia Mielóide Crônica (LMC), sendo um importante fator na classificação desta patologia. É incomum encontrar basofilia associada à leucemia aguda, salvo em casos de Leucemia Mielóide Aguda (LMA) com t(6;9)(p23;q34) ou alterações do cromossomo 12p. **Objetivo:** Neste relato de caso discutimos o diagnóstico diferencial entre Leucemia Mielóide Basofílica, LMC em crise blástica e LMA com alterações relacionadas à Mielodisplasia, a partir de um hemograma com blastos e basofilia intensa. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 62 anos, com história pregressa de Anemia Aplástica Severa (AAS) há 5 anos, cariótipo normal ao diagnóstico; 46, XY [20], em tratamento ambulatorial com ciclosporina. Apresentava exposição ocupacional crônica ao benzeno, constatada pelo relato de trabalho em posto de gasolina por 20 anos. O hemograma revelou anemia grave, com hemoglobina de 5,5g/dl, contagem de plaquetas de 30.000/ μ l e 6.490/ μ l leucócitos, com 57% de basófilos e 25% de blastos. A análise imunofenotípica de medula óssea mostrou 46,6% de blastos da linhagem mielóide, além de 17% de basófilos anormais e alteração na maturação da linhagem mielóide. A apresentação antigênica dos blastos mostrou positividade para CD7, CD13, CD33, CD34, CD38, CD117, CD123 e HLA-DR. Os basófilos apresentavam positividade para CD2, CD33, CD34, CD203, CD117, CD123 forte e negatividade para HLA-DR. Para a diferenciação entre as suspeitas diagnósticas foi realizada análise citogenética convencional que revelou a presença de monossomia do cromossomo 7 em quinze das vinte metafases analisadas, além de cromossomos marcadores e rearranjos estruturais nos cromossomos 1

e 2; 45, XY, -7[12]/45, sl, +mar [3]/3845, XY [5]. **Discussão:** A atual classificação da Organização Mundial de Saúde para tumores hematopoéticos sugere que as alterações citogenéticas são essenciais no diagnóstico e classificação das leucemias mielóides agudas. Frente ao cariótipo encontrado pode-se excluir a possibilidade de LMC em crise blástica, uma vez que não foi observada a presença de cromossomo *Philadelphia*, t(9;22). Como não foi encontrada a t(6;9)(p23;q34), pode-se excluir também as leucemias agudas com alterações genéticas recorrentes com basofilia. A monossomia do cromossomo 7 é comum em síndromes mielodisplásicas e LMA, a qual pode ocorrer *de novo* ou secundária à exposição a agentes químicos mutagênicos, tratamentos quimioterápicos com agentes alquilantes, ou podem também ser secundárias ao tratamento imunossupressor para AAS. **Conclusão:** Diante do histórico clínico e laboratorial acima descrito, a leucemia pode ser explicada como LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia, podendo ser secundária à exposição ao benzeno e/ou ao tratamento imunossupressor para AAS, visto que estes são os principais fatores relacionados ao surgimento de mielodisplasia ou LMA secundária, em casos com monossomia do cromossomo 7.

0464

Resultados do tratamento da leucemia linfoblástica aguda em adultos baseado no protocolo GMLLA 07/2003 no Hospital Santa Marcelina

Ramalho FM, Almeida MS, Conchon M, Cazeli AB, Samico RC, Parisio K, Oliveira JS

Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP

Introdução: Apresentamos a experiência de dois anos de tratamento da leucemia linfoblástica aguda (LLA) do adulto de acordo com o protocolo GMLLA (grupo de estudo multicêntrico alemão para LLA do adulto) 07/2003 no Hospital Santa Marcelina. **Métodos:** É um estudo observacional com levantamento retrospectivo dos prontuários de todos os pacientes com LLA *de novo* no período de agosto de 2010 a julho de 2012 acompanhados no serviço de hematologia. Determinamos a taxa de remissão completa (RC), a ocorrência de eventos adversos relacionados à quimioterapia, a taxa de recaída, o *status* dos pacientes ao término do período de seguimento e após transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH), assim como as causas de óbito. **Resultados:** Vinte e cinco pacientes foram incluídos neste estudo, dezesseis homens (64%) e nove mulheres (36%). A idade foi de 15 a 56 anos com média de 30,7 e mediana de 30 anos. Vinte e um pacientes com LLA-B (84%) e 4 LLA-T (16%). Conforme o protocolo, foram classificados 5 pacientes (20%) como baixo risco, 15 como alto risco (60%) e 5 como muito alto risco (20%). A taxa RC após indução (46 dias) foi de 88% e a mortalidade durante a indução foi de 12%. Ao final do período de seguimento de 24 meses, 14 (56%) pacientes estão vivos e em remissão completa, um (4%) em recaída e 10 (40%) morreram. A toxicidade ao tratamento resultou em morte em 7 pacientes, a recaída ou progressão da doença em 3 outros. As complicações infecciosas associadas à neutropenia febril foram o efeito adverso mais comum. A sobrevida mediana foi de 17 meses, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos de risco. Foram realizados sete TCTH, sendo cinco alogênicos aparentados em primeira remissão, um autólogo em primeira remissão e um alogênico aparentado em segunda remissão. Um paciente morreu por toxicidade ao transplante, dois apresentaram recaída após o transplante e quatro encontram-se em remissão completa. **Conclusão:** O protocolo GMLLA para tratamento da LLA de adultos jovens em nossa instituição foi exequível e os Resultados de RC, toxicidade e sobrevida mediana foram comparáveis aos da literatura. Não encontramos diferença estatística na sobrevida

entre os diferentes grupos de risco devido ao pequeno número de pacientes incluídos nos grupos. Referências: 1. Hoelzer D, Gokbuget N, Ottmann O, *et al.* Acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2002;1: 162-192. 2. European Leukemia Net. European Leukemia Trial Registry - Trial: ALL GMALL 07/2003. Available at: http://www.leukemia-net.org/trial/download/public/ALL_GMALL07-03_ShortProtEN.pdf?id=489. Accessed September 28, 2006.

0465

Avaliação do desfecho entre pacientes com leucemias agudas internados no Hospital Geral César Cals de Oliveira no período de maio 2009 a julho 2011: grupo de leucemias como variável preditora de desfecho

Silva HF, Barbosa SA, Vieira EM, Moreira MR, Menezes CN, Cardoso FP, Batista KD, Oliveira DS, Correa JW, Barbosa OA

Hospital Geral César Cals de Oliveira - HGCCO, Fortaleza, CE

Introdução: O hospital estudado dispõe desde maio de 2009 de Unidade de Hematologia, na qual são tratadas majoritariamente doenças hematológicas malignas, em especial leucemias. As leucemias agudas não são um grupo de patologias homogêneas, sendo, de modo grosseiro, divididas em dois grandes grupos: as Leucemias Linfóides Agudas (LLA) e as Leucemias Mielóides Agudas (LMA). O estado do Ceará dispõe de poucos serviços que recebam pacientes com tais afecções. Neste contexto, o serviço instituído no Hospital Geral César Cals de Oliveira (HGCCO) começou a atender pacientes a partir de maio de 2009, perfazendo até julho do ano corrente um total de 59 pacientes, 16 pacientes com LLA (27,11%) e 43 pacientes com LMA (72,88%). Do total estudado, 28,88% tinham como trabalho atual ou prévio a agricultura e possível exposição a agrotóxicos; 23,72% tinham como procedência a capital do estado, Fortaleza, sendo, pois, a maioria, cerca de 76,27%, formada por pacientes de origem interiorana. **Métodos:** Trata-se de um estudo de cunho ecológico, baseado na correlação entre tipo de leucemia aguda de pacientes internados na Unidade de Hematologia do HGCCO e o desfecho terapêutico. Para tanto usou-se teste qui-quadrado disponível no *software Epiinfo version 3.5.2* para avaliação de interação entre as variáveis citadas. **Resultados:** Foram avaliados 59 pacientes quanto à leucemia de apresentação ao serviço e o desfecho: se sobrevida ou se óbito. Foram excluídos dois pacientes, um com Leucemia Aguda Indiferenciada (LAI) e outro com leucemia bifenotípica. Demonstrou-se que pacientes com LLA diagnosticados e tratados no serviço supracitado tiveram taxas de desfecho letal menor que os diagnosticados com LMA, numa relação de OR de 0,2149 (IC de 95%, 0,051-0,8341). **Conclusão:** Paciente com LLA tiveram desfecho mais favorável que os com LMA na casuística estudada, o que pode ser explicado pelo fato de a amostra maior corresponder aos pacientes com LMA. No entanto, chama a atenção outras explicações, dentre elas, o fato de que a maioria de nossos pacientes com LMA possuíam idade acima de 60 anos de idade, o que, além de ser um fator independente de prognóstico desfavorável, também está relacionado com uma menor resposta ao tratamento quimioterápico além de serem mais propensos a virem para a internação com comorbidades, as quais, sabidamente, dificultam a resposta terapêutica e a tornam menos eficaz a longo prazo. Faz-se necessário a continuidade do seguimento dos pacientes atendidos no serviço supracitado com o intuito de se entender melhor as demandas de atendimento e de cuidado necessitadas pelos usuários.

0466

Achados morfológicos do aspirado de medula óssea em casos de necrose de medula óssea

Mourad SC¹, Takihy IY¹, Sá J², Pacheco LZ¹, Pintao MC¹, Chauffaille ML¹, Rizzatti EG¹, Sandes AF¹

¹ Setor de Hematologia/Automação, Grupo Fleury, São Paulo, SP

² Tecnologia da Informação, Grupo Fleury, São Paulo, SP

Introdução: Necrose de medula óssea é uma entidade clinicopatológica única, caracterizada por necrose do estroma medular e tecido mieloide, podendo comprometer uma grande área do tecido hematopoético. Foi descrita inicialmente por Wade e Stevenson em 1941, em um caso de anemia falciforme e é considerada um achado relativamente raro. Necrose medular é mais frequente em pacientes com neoplasias hematológicas e câncer metastático, podendo também ser detectada em condições benignas como anemia falciforme, lesão direta da medula óssea (radiação), infecção (HIV e sepsis) e uso de medicamentos. Necrose medular também tem sido descrita após uso de quimioterápicos (fludarabina, ATRA, imatinibe) e fator de crescimento de granulócitos. Embora o diagnóstico de necrose medular seja realizado por biópsia de medula óssea, muitas vezes estes pacientes realizam apenas mielograma, sendo necessário conhecer as alterações morfológicas que promovam a suspeita clínica desta entidade. **Objetivos:** Relatar os aspectos morfológicos encontrados no aspirado de medula óssea de dois casos de necrose de medula óssea na pesquisa realizada em 17.243 amostras de aspirado de medula óssea no período de 1997 a 2012. **Resultados:** Caso 1) Paciente de 41 anos, sexo masculino, com diagnóstico de Sarcoma de Ewing. Apresentava metástase óssea e pulmonar, em tratamento radioterápico paliativo para tratamento de dor crônica, evoluindo com pancitopenia, HB: 8,6g/dL; Leucócitos: 1.670/mm³; plaquetas: 50.000/mm³, reação leucoeritoblástica e com hipótese diagnóstica de infiltração medular. Caso 2) Paciente de 3 anos, sexo masculino, com diagnóstico de leucemia mieloide aguda, em avaliação após quimioterapia de segunda linha (D+13). Apresentava pancitopenia, HB: 9,1g/dL; Leucócitos: 150/mm³; plaquetas: 49.000/mm³; DHL: 2659 U/L; Dímero D: > 10.000 mg/mL; Fosfatase alcalina: 330 U/L; PCR: 56,49 mg/dL. Nos dois casos relatados houve dificuldade na coleta do aspirado de medula óssea, sendo realizadas várias punções em crista ilíaca para obtenção do material, que apresentaram diluição moderada em sangue periférico. Na análise morfológica observou-se a presença de células com núcleo em picnose e sombras nucleares, com presença de depósito de material proteico amorfo e coloração de fundo eosinofílica, sendo achados característicos de necrose medular. **Discussão:** Necrose de medula óssea é uma entidade rara e geralmente associada com prognóstico desfavorável em pacientes com leucemias e linfomas. Os pacientes apresentam quadro de dor óssea, associada a citopenias e aumento de DHL e fosfatase alcalina. As principais alterações morfológicas encontradas são a presença de células em apoptose (núcleo picnótico e sombras nucleares), associadas a fundo de material granular eosinofílico. Os achados de aspirado de medula óssea com os dados laboratoriais podem ser úteis no diagnóstico da necrose medular.

0467

Infiltração de sistema nervoso central por leucemia linfoblástica aguda com achados clínicos sugestivos e estudos de imagem inconclusivos: relato de caso

Silva HF, Barbosa SA, Vieira EM, Moreira MR, Batista KD, Menezes CN, Cardoso FP, Oliveira DS, Barbosa OA, Correa JW

Hospital Geral César Cals de Oliveira - HGCCO, Fortaleza, CE

Introdução: A Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) é uma doença hematológica maligna na qual há uma proliferação desordenada de células blásticas linfóides na medula óssea. Tal leucemia é mais comum na infância, com resposta favorável à quimioterapia. No entanto, quando acomete adultos, a doença tem um prognóstico desfavorável, com baixa taxa de cura e altos índices de recidiva. A incidência de infiltração do Sistema Nervoso Central (SNC) ao diagnóstico é de menos de 10%. A contagem elevada de blastos em sangue periférico ao diagnóstico e LLA de células T são fatores de risco para infiltração neurológica. No que concerne a recidivas, ocorre tendência a acometimento do SNC, motivo pelo qual se realiza a profilaxia com quimioterapia intratecal. O caso relatado trata de um paciente portador LLA B com cariótipo normal e com infiltração em SNC apresentando comprometimento de 4 pares de nervos cranianos. **Métodos:** Estudo clínico laboratorial descritivo do caso. Relato do caso: Homem, 29 anos, casado, motorista de ônibus, natural e procedente de Fortaleza-CE. Em junho de 2012, iniciou febre, astenia, manchas purpúricas em braços, associado à anemia, leucocitose e plaquetopenia. Após o diagnóstico de LLA de células B foi tratado seguindo o Hyper-CVAD. Dois dias após alta hospitalar, apresentou dor lombar e em pernas associada à diminuição de força muscular. Após cinco dias, cursou com midríase fixa esquerda, ptose palpebral ipsilateral, além de perda quase total da movimentação ocular, com preservação apenas parcial da abdução do mesmo olho, caracterizando lesão dos nervos cranianos III, IV e VI. A Vincristina, um dos quimioterápicos usados no protocolo supracitado, pode apresentar como efeito colateral neuropatia periférica, parestesia e perda sensorial, além de dor neurítica e dificuldades motoras com a persistência do tratamento. Assim, para determinar a etiologia das alterações neurológicas apresentadas foi realizada análise líquórica que mostrou presença de 08 leucócitos, sugerindo invasão de SNC. Realizou-se Ressonância Nuclear Magnética (RNM) de crânio, revelando espessamento das meninges em região fronto-parietal esquerda, o qual, apesar de condizente com a topografia esperada, não oferecia sinais concretos para que se pudesse afirmar que seja este a sede da sintomatologia apresentada. A RNM de crânio, porém, não revelou alterações na topografia relacionada as alterações oculares que seriam fruto de uma provável infiltração em região de seio cavernoso, local que, uma vez afetado, pode acometer os pares cranianos III, IV, V3 e VI. **Conclusão:** Apesar dos Resultados negativos da RNM para infiltração do seio cavernoso, não se pode descartar lesão nessa região, uma vez que o padrão apresentado de midríase fixa, seguida de ptose lembra um padrão de compressão do oculomotor, caracterizado pela apresentação cronológica de alteração pupilar, resultado da compressão das fibras parassimpáticas deste nervo, que se localizam mais periféricamente, seguido da ptose palpebral. Sabe-se, pela análise líquórica, que houve infiltração, porém não se pode precisar exatamente o local da mesma uma vez que não há imagens que confirmem a presença de massa em SNC. O paciente foi tratado com protocolo MADIT, havendo melhora progressiva do quadro neurológico.

0468

Mucormicose disseminadas em paciente com diagnóstico de leucemia mieloide aguda indiferenciada

Campos VF, Ribeiro EF, Santos VM, Paixão GT, Souza DW, Rodrigues LM, Vieira TA, Camilo AG, Junior JHS, Marinho CM

Hospital das Forças Armadas de Brasília, Brasília DF

Este é um relato de caso de uma paciente de 38 anos, do sexo feminino, branca, brasileira que procurou o serviço de clínica médica do Hospital das Forças Armadas de Brasília com história de febre com quatro dias de evolução. Exames admissionais demonstraram Hb: 9,4 g/dL, GB 1.400 x 10⁹/L, neutrófilos 182 x 10⁹/L, plaquetas 54.000 x 10⁹/L, VHS 119mm/1^h. Instituído tratamento antimicrobiano em ambiente de emergência (cefepime 3g/dia). Realizado

mielograma e enviado material para fenotipagem: 87,8% de células blásticas, presença de CD7, CD33, CD34, CD71, CD117, HLA-DR, MPO, TdT; diagnóstico de Leucemia Mielóide Aguda M0. Não foi evidenciado rearranjo gênico *BCR-ABL* no exame quantitativo. Foi iniciado quimioterapia de indução com Citarabina (ARA-C) associado à Idarubicina (IDA) com duração de 7 + 3 dias. Durante tratamento apresentou cardiotoxicidade à quimioterapia (ARA-C + IDA), evoluindo com Insuficiência Cardíaca Descompensada com Instabilidade hemodinâmica (Ecocardiograma FEVE 39%, derrame pericárdico e derrame pleural bilateral; ecocardiograma realizado na admissão mostrava FEVE normal + pró-BNP 3.498,0pg/dL), com estabilização após tratamento suporte e resolução cirúrgica do derrame pleural. Iniciado medicações para ICC esquerda. Apesar da terapia antibiótica de espectro (Meropenem e Teicoplanina) ampliado a paciente persistiu manifestando picos febris diários de origem indeterminada. Foi instituído tratamento antifúngico com Anfotericina B lipossomal, porém paciente evoluiu com hipersensibilidade e hipertermia durante a infusão sendo necessária troca por Voriconazol. Seguiu quadro de diarréia, distensão abdominal associado à crises álgicas, não havendo crescimento de patógenos em coprocultura e ausência de Toxina A e B do *C. difficile*. Tomografia Computadorizada de abdome evidenciou lesões hipoatenuantes em parênquima hepático e esplênico, sendo aventada a hipótese diagnóstica de candidíase hepato-esplênica e associado Caspofungina ao tratamento antimicrobiano. Manteve febre e evoluiu com novo quadro respiratório com queda da saturação arterial de oxigênio. Cultura de líquido cavitário (pleural) mostrou crescimento de *Candida zeylanoides* e Cultura do Lavado brônquico, *C. tropicalis*, apresentando melhora do padrão respiratório com a manutenção de terapia antifúngica ampla. Imagens tomográficas de controle demonstravam nódulos pulmonares e esplênicos em evolução. Realizada Esplenectomia e material analisado: compatível com mucormicose. Iniciado tratamento com Anfotericina B lipossomal (150mg/dia) associada à Exjade (1g/dia) por 45 dias com proteção anti-histamínica pré-infusional. Apresentou estabilização do quadro séptico sendo então instituído ciclo quimioterápico fase II - ARA-C 1,5g/m², mantendo boa estabilidade clínica. Recebeu alta hospitalar e acompanhamento pelo serviço de Hematologia do HFA/DF.

0469

Caracterização de imunofenótipos associados à leucemia: implicações na classificação e na avaliação de doença residual mínima na leucemia linfoblástica aguda-T

Takao TT, Maekawa Y, Tamashiro N, Ritter EC, Silva AC, Faria MF, Sousa FA, Rizzatti EG, Sandes AF

Grupo Fleury, São Paulo, SP

Introdução: A citometria de fluxo é um método essencial no diagnóstico de leucemias agudas, uma vez que identifica de forma inequívoca a linhagem hematopoética acometida e a presença de células imaturas, que na grande maioria dos casos exibem padrões anormais de expressão antigênica, caracterizando o assim chamado “*imunofenótipo associado à leucemia (IFAL)*”. Fenótipos aberrantes incluem expressão de marcadores não encontrados em uma determinada linhagem hematopoética (infidelidade de linhagem), desvios da via normal de maturação (assincronia de maturação) e densidades anormais de expressão antigênica de uma linhagem específica. Os mecanismos pelos quais ocorre a expressão de IFAL nas leucemias ainda permanecem obscuros; no entanto, já é possível estabelecer associações com características biológicas da doença, com translocações cromossômicas recorrentes, e com fatores prognósticos. A maioria dos casos de leucemia linfoblástica aguda-T (LLA-T) apresenta fenótipos que correspondem a diferentes estágios de diferenciação de timócitos,

células que não são encontradas na medula óssea (MO) e no sangue periférico (SP) de indivíduos normais, podendo portanto serem utilizadas para a detecção de doença residual mínima (DRM). O presente estudo tem como objetivo avaliar a frequência de IFAL nas LLA-T e identificar os marcadores mais úteis para o estudo de DRM. **Métodos:** Foram avaliados 200 casos consecutivos de LLA-T diagnosticados em nosso laboratório de jan/2005 a junho/2012. Citometria de Fluxo de quatro cores foi realizada em amostras de MO e SP utilizando um amplo painel de anticorpos monoclonais. Os casos foram analisados pelos softwares Paint-a-Gate e Infinicyt. **Resultados:** A mediana de idade foi de 17 a (1-93), e 65% dos casos foram do sexo masculino. As principais anormalidades encontradas foram: *fenótipo ectópico* (associado ao timo): expressão de TdT/CD7: 89,4% (178/199), CD34/CD7: 39,1% (72/184), CD4⁺/CD8⁺/CD3^{neg/fraco}: 33,3% (66/198); CD1a: 25% (24/94); *infidelidade de linhagem:* CD79a: 41% (76/185); CD10: 40,7% (79/194); CD13: 18,8% (32/170), CD22: 6,5% (6/91) e CD19: 0,5% (1/191); *diminuição de expressão de antígenos pan-T:* CD5 negativo: 21/197 (10,7%); CD2 negativo/parcial: 90/196 (45,9%), CD3 de superfície negativo: 101/188 (53,7%) e CD7 negativo: 2/198 (1%). Nos 21 casos TdT negativo, as principais anormalidades encontradas foram sCD3⁻ (n=11), CD2⁻ (n=9), CD34⁺ (n=8) e CD79a⁺ (n=7). Não foram detectados IFAL em 3 casos (1,5%). **Discussão:** Nossos Resultados demonstraram a presença de mais de 98% de IFAL nas LLA-T e as alterações mais comuns foram a expressão ectópica de TdT, ausência de sCD3 e a baixa expressão de CD2. Embora se acredite que o CD7 sempre é expresso por blastos de LLA-T, este marcador foi negativo em 1% dos casos analisados. Os antígenos de células de linhagem B, CD79a e CD10, foram detectados em mais de um terço dos casos e a expressão deste marcadores não deve ser utilizada como critério isolado de classificação de leucemia de fenótipo misto B/T na ausência de expressão de CD19. De acordo com a frequência de IFAL encontrada, sugerimos algumas combinações de anticorpos monoclonais para a detecção de DRM que podem ser aplicadas a todos os casos de LLA-T, mesmo naqueles com fenótipo inicial desconhecido. Tais combinações serão demonstradas em detalhes na apresentação deste estudo.

0470

Frequência e caracterização imunofenotípica da leucemia de células T precursoras iniciais

Takao TT, Maekawa Y, Tamashiro N, Ritter EC, Silva AC, Faria MF, Sousa FA, Rizzatti EG, Sandes AF

Grupo Fleury, São Paulo, SP

Introdução: A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é a neoplasia maligna mais comum da infância, sendo que 85% dos casos são originados de células B imaturas e 15% de células de linhagem T. Recentemente, um subgrupo de LLA-T foi caracterizado através de um perfil de expressão gênica semelhante a células T precursoras iniciais (early T-cell precursors – ETP), que apresentam a capacidade de se diferenciar tanto em células de linhagem T quanto mieloide. Esta entidade está associada a prognóstico desfavorável, com elevado risco de recidiva após tratamento quimioterápico e compreende cerca de 15% das LLA-T da infância e 30% dos adultos. Blastos de LLA-ETP apresentam imunofenótipo específico, caracterizados por ausência de expressão dos antígenos CD1a e CD8, baixa expressão de CD5, associados à expressão de um ou mais dos seguintes antígenos de células precursoras ou mieloide: CD117, CD34, HLA-DR, CD13, CD33, CD11b e/ou CD65. O presente estudo tem como objetivo determinar a frequência deste novo subtipo de LLA-T em nossa população e descrever as principais características imunofenotípicas encontradas. **Métodos:** Foram avaliados, retrospectivamente, 200 casos de LLA-T diagnosticados em nosso laboratório de dezembro/2007 a junho/2012,

sendo que 94 casos realizaram o painel mínimo necessário para o diagnóstico de LLA-ETP. Citometria de fluxo de quatro cores foi realizada em amostras de medula óssea e sangue periférico utilizando um amplo painel de anticorpos monoclonais. Os dados foram analisados pelos softwares Paint-a-Gate e Infinicyt. **Resultados:** A mediana de idade dos 94 pacientes estudados neste período foi de 15 anos (1-76), sendo que 25,8% foram do sexo feminino e 74,2% masculinos. Dezoito casos (19%) foram classificados como leucemia ETP, sendo 8 mulheres/10 homens e 7 crianças/11 adultos. O antígeno CD5 foi expresso em menos de 75% dos blastos de 9/18 casos, sendo negativo nos casos restantes. CD34 foi expresso em 17/18 casos, CD13 em 8/16, CD33 em 8/15, CD117 em 8/12 e HLA-DR em 4/7 casos, e todos os casos foram negativos para mieloperoxidase intracitoplasmática. O antígeno TdT foi expresso em 15/18 casos e 5/17 casos apresentaram expressão anômala de CD79a. **Discussão:** ETP é um novo subtipo de LLA de prognóstico desfavorável, sendo encontrada em 19% dos casos de LLA-T em nosso estudo, uma frequência compatível com o que vem sendo reportado na literatura. O diagnóstico diferencial deve ser realizado com casos de LLA pró-T e LLA pré-T, uma vez que estes casos são negativos para CD1a e CD8 e apresentam baixa expressão de CD5. O reconhecimento desta entidade é de grande relevância clínica, uma vez que este grupo de pacientes é refratário aos protocolos quimioterápicos convencionais, estando indicado o uso de esquemas terapêuticos mais agressivos. Recomendamos a inclusão de marcadores mieloides (CD13, CD33, CD11b e CD65) e marcadores de células precursoras (CD34, CD117 e HLA-DR) nos painéis diagnósticos de LLA-T para o rápido reconhecimento e classificação desta entidade.

0471

Estudo de alterações genéticas e sua relação com dados clínico-laboratoriais em pacientes adultos com leucemia mielóide aguda da Fundação HEMOPE

Lima AS^{1,2}, Quintas AS^{1,2}, Júnior CH^{1,2}, Falcão DA^{1,2}, Hatzlhofer BL^{1,2}, Neves MA², Araújo AS², Machado CG², Lucena-Araújo AR³, Bezerra MA^{1,2}

¹ Centro de Ciências Biológicas – LABCEN, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

² Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE, Recife, PE

³ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Introdução: A classificação atual da OMS para LMA reconhece a importância da pesquisa de anormalidades genéticas para diagnóstico e manejo adequado do paciente. Recentemente marcadores moleculares, como mutações nos genes *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA* e *KIT* têm se mostrado ferramentas úteis para a avaliação prognóstica. **Objetivo:** Caracterizar pacientes com LMA diagnosticados na Fundação Hemope de acordo com achados clínico-hematológicos, citogenéticos e mutações nos genes *FLT3* e *NPM1*. **Métodos:** Foram incluídos 101 pacientes com LMA de novo diagnosticados entre março de 2010 e maio de 2012. As variáveis de idade, sexo, subtipos de LMA, leucometria, contagem de plaquetas, níveis de hemoglobina, percentual de blastos na medula óssea (MO), achados citogenéticos, rearranjo molecular *PML/RARA*, remissão completa e sobrevida global (SG) foram obtidas através da análise de prontuário. O DNA genômico foi extraído de sangue periférico ou MO para a análise das mutações nos genes *FLT3* e *NPM1*. A mutação *FLT3/ITD* e as mutações no gene *NPM1* foram analisadas através de PCR. A mutação *FLT3/TKD* foi analisada a partir de PCR-RFLP com a endonuclease de restrição *EcoR V*. A análise estatística foi realizada pelo software *SPSS Statistics 19.0*. **Resultados:** A mediana de idade foi de 50 anos (18-87,8) e a prevalência em relação ao gênero foi de 47/54

(masc/fem). As médias de blastos na MO, leucócitos, plaquetas e hemoglobina foram de 65,4% (22-98), $57,3 \times 10^9/L$ (0,49-285,7), $70,9 \times 10^9/L$ (6,0-652,0) e 8,2g/dl (3,6-13,8) respectivamente. O subtipo FAB mais frequente foi o M2 (33,7%), seguido do M4 (22,8%) e do M3 (11,9%), não sendo diagnosticado nenhum caso de M7. A citogenética foi realizada em 45 pacientes, destes a análise foi bem sucedida em 35. O risco genético foi estratificado segundo o grupo *European LeukemiaNet*. A frequência das mutações *FLT3/ITD*, *FLT3/TKD* e *NPM1* foi de 20,8%, 2,0%, 22,8%, respectivamente. As mutações *FLT3/ITD* foram relacionadas com alta contagem de leucócitos ($p=0,05$). As mutações no gene *NPM1* foram mais frequentes em pacientes com idade superior a 60 anos ($p=0,012$) e no grupo de cariótipo normal ($p=0,026$) e estiveram relacionadas com alta contagem de leucócitos ($p=0,025$). Para a análise de sobrevida, foram incluídos 50 pacientes. A mediana de seguimento foi de 16,5 meses. A SG média estimada foi de 15,4 meses (IC95%: 10,5-20,4) e a mediana de 4,6 meses (IC95%: 1,5-7,7). A SG média dos grupos de risco favorável, intermediário e adverso foi de 13,4; 11,1 e 4,8 meses respectivamente ($p=0,446$). Pacientes *FLT3/ITD+* e *FLT3/ITD-* apresentaram SG média de 3,7 e 17,4 meses respectivamente ($p=0,026$). Não houve diferença estatística entre a SG dos grupos *NPM1+* e *NPM1-* ($p=0,609$), mesmo quando as mutações *NPM1* foram analisadas associadas as *FLT3/ITD* ($p=0,078$). **Conclusões:** As frequências das mutações *FLT3/ITD* e *NPM1* estão de acordo com a literatura. A baixa frequência das mutações *FLT3/TKD* é semelhante ao relatado na literatura brasileira, mas está em desacordo com estudos de países desenvolvidos. Mutações *FLT3/ITD* se mostraram ferramentas importantes para estratificação de risco, estando relacionadas com um pior prognóstico. Os Resultados mostraram um pior desfecho dos pacientes em relação aos países desenvolvidos, chamando a atenção para a necessidade de iniciativas colaborativas na tentativa de reverter esse quadro.

0472

Investigação submicroscópica de alterações genéticas na leucemia mielóide aguda com alteração no fator de ligação nuclear (CBF-LMA)

Costa AR¹, Krepischi A², Rosenberg C³, Chauffaille ML¹

¹ Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

² Centro Internacional de Pesquisa – CIPE, Hospital AC Camargo – HACC, São Paul, SP

³ Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo – IBUSP, São Paulo, SP

A t(8;21) e inv(16) sozinhas não são suficientes para a geração do clone leucêmico na CBF-LMA. Mutações no gene *KIT* são lesões genéticas associadas a este subtipo de LMA, com possíveis implicações prognósticas. Plataformas de arranjos com sondas polimórficas (SNP_a) detectam anormalidades no número de cópias e perda de heterozigose sem alteração no número de cópias (CNN-LOH) em todo o genoma. **Objetivo:** Com o intuito de investigar alterações genéticas cooperantes na CBF-LMA, foi realizada análise de mutações no gene *KIT* e SNP_a em um conjunto de pacientes com este subtipo de LMA. **Métodos:** Foram selecionados quinze pacientes com CBF-LMA, identificados por cariótipo convencional (KT). SNP_a 6.0 (Affimetrix) foi realizado conforme orientações do fabricante e para validação foram utilizados: plataforma de Hibridação genômica comparativa com arranjos (aCGH), 180K (Agilent) e FISH interfásico (iFISH) para os genes *BCR* e *CBFB/MYH11*. A análise dos experimentos de arranjos foi feita com o uso de programa independente (Nexus copy number 6.0), com resolução efetiva de 100 kilobases para ambas as plataformas. Regiões reportadas na população geral como sujeitas a alterações de cópias numéricas foram consideradas alterações geminativas e desconsideradas

das na análise final. Pesquisa de mutações no gene *KIT* (exon 8 e 17) foi feita por sequenciamento direto. **Resultados:** Três pacientes tinham resultado citogenético prévio de leucemia com inv(16) e doze com t(8;21). Alterações microscópicas reveladas apenas pelas técnicas de arranjos foram: nulissomia do Y (casos 1 e 8); material adicional do 1q25q44 (caso 6);deleção intersticial do 9q22 (caso 12) e trissomia 8 (caso 7). Em um caso as plataformas de arranjos não detectaram +22 em baixa frequência, observado pelo KT. iFISH para o gene *BCR* confirmou a alteração detectada pelo KT. Com relação as alterações submicroscópicas, detectaram-se várias, porém poucas puderam ser confirmadas pelo aCGH, com pouca recorrência entre os casos. Detectou-se um caso de inv(16) não equilibrada, confirmada pelo iFISH. Mutações no *KIT* estiveram presentes em três casos. Em dois destes, houve associação com amplificação de 412Kb na região 4q28 e CNN-LOH da região 16q22.1, com 2,2Mb. Extensas regiões de CNN-LOH (>25Mb) foram detectadas em quatro casos. A análise destes casos pelo SNPa acrescentou informações importantes ao KT, com relação a alterações microscópicas, submicroscópicas e CNN-LOH. A baixa frequência de mutações *KIT* nestes casos enfatiza o papel destas anormalidades como possíveis alterações cooperantes neste conjunto de pacientes.

0473

Avaliação da demanda e da frequência de alterações cromossômicas em um serviço de citogenética na cidade de Manaus, AM (2010-2012)

Matos CL^{1,2}, Corrêa JA^{2,3}, Alves EB^{2,4}, Ferreira YA⁴, Santos AM⁴

¹ UniCEL - Faculdade Literatus, Manaus, AM

² Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, Manaus, AM

³ Universidade Estadual do Amazonas – UEA, Manaus, AM

⁴ Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - HEMOAM, Manaus, AM

Introdução: Cariótipo é uma importante ferramenta para o diagnóstico, prognóstico, tratamento, monitoramento e compreensão de diversos mecanismos biológicos de uma diversidade de patologias hematológicas. **Objetivo:** Verificar as alterações cromossômicas, sua frequência e as principais indicações do cariótipo no laboratório de Citogenética da Fundação Hemoam. **Métodos:** Estudo retrospectivo e prospectivo, observacional de 164 pacientes com doenças hematológicas diversas, encaminhados para este serviço no período de Março de 2010 a Junho de 2012. Este estudo foi aprovado pelo CEP (CAAE 0018.0.112.000-11). **Resultados:** Foram encaminhadas 268 amostras para cariótipo onde 237 (88,4%) foram submetidas a cultura e as demais foram descartadas por falhas no processo pré-analítico. Metáfases foram obtidas em 164 amostras (69,2%). Cariótipos normais ocorreram em 59,1% dos casos e os anormais em 40,9%, onde 71,6% apresentavam alterações estruturais, 16,4% numéricas e 11,9% ambas. Na SMD, 44,1% apresentaram cariótipos normais e 14,7% anormais com envolvimento do cromossomo 7 na maioria dos casos. Na LMA, 29,5% apresentou cariótipo normal, 15,9% t(15;17) e 9,1% deleção do cromossomo 11, entre outras. Na LLA 52,6% apresentaram cariótipo normal e 7,9% t(9;22), sendo a alteração citogenética mais comum neste grupo de doenças. Conclusão: Galera, B. B. e colaboradores (2009) em Mato Grosso, relatou uma taxa de sucesso no crescimento da cultura celular de 97,2%, discordante da encontrada neste estudo que foi de 69,2%. Recomenda-se padronização na solicitação do exame cariótipo e no fornecimento de informações dos pacientes bem como implantação de técnicas complementares moleculares para aperfeiçoamento do estudo das alterações cromossômicas nas neoplasias hematológicas.

0474

Podem os inibidores de aromatase induzir diferenciação e apoptose em leucemia aguda?

Sthel VM¹, Yamamoto M², Silva MC¹, Figueiredo VL¹

¹ Hospital do Servidor Público Estadual – HSPE, São Paulo, SP

² Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Introdução: Nos últimos anos tem-se estudando a ação de esteroides anabolizantes como agentes diferenciadores e indutores da apoptose em diferentes tipos celulares, inclusive neoplásicas. Os inibidores de aromatase, uma enzima que converte andrôgeno para estrógeno, via citocromo P450, impedem essa conversão, alterando todo metabolismo desses esteróides. Tem-se descrito que seu uso crônico libera citocinas inflamatórias (IL12, IL6, TNF γ e TNF α), podendo levar a processos imunomoduladores. **Relato de Caso:** Paciente feminina, 61 anos admitida com queixa de febre, perda de peso e fadiga há 15 dias. Ao exame encontrava-se descorada, desidratada e apresentava um nódulo mamário de 3 cm à direita e celulite em joelho esquerdo. Ex. laboratoriais: Hb=5,8g/dL, Ht=17,5%, GB=0.52x10⁹/dL (Nt=22.9%, Eos=4.3%, Baso=1.1%, Linf=69.5%, Mono=0.4%), plaquetas 40x10⁹/L; TP RNI=2,01 e TTPa R=1,67. Miелоgrama com células imaturas formando aglomerado sincicial e biópsia de medula óssea (MO) com 80% de celularidade e presença de células indiferenciadas. Bioquímica normal. Ultrassom e Tomografia de abdômen mostraram nódulos hepáticos (32x30 mm). Não foi realizada biópsia do nódulo mamário pela condição crítica da paciente. Com a hipótese diagnóstica de Ca de mama metastático + sepse e CVD, foi tratada com G-CSF, imipenem, vancomicina e prednisona. Foi também iniciado anastrozol, um inibidor de aromatase como tratamento da neoplasia mamária. Evolução - houve considerável melhora clínica, quando o resultado de imunofenotipagem da MO revelou diagnóstico de leucemia aguda (LA) indiferenciada (CD34+, CD13+ e CD117+, MPO-, CD65-, CD64-, CD33-, CD19-, CD10-, CD3-). A paciente, no entanto, recusou o tratamento quimioterápico, assim como a repetição do mielograma. Recebeu o inibidor de aromatase e G-CSF por um mês, tendo alta hospitalar com Hb=11,6g/dL, Ht=33,5%, GB=1,87x10⁹/L (Nt 34%, Eos 11%, Baso 0%, Linf 49%, Mono 1%) e plaquetas 173x10⁹/L. A paciente passou bem por 5 meses quando apresentou granulocitopenia com presença de células blásticas no sangue periférico e foi a óbito em choque séptico. **Discussão** O presente caso mostrou regressão da LA mesmo sem nenhum tratamento específico. Na ocasião encontrava-se em uso do inibidor de aromatase o qual poderia ter levado ao acúmulo de andrôgeno e pró-andrôgeno e ter promovido diferenciação e apoptose das células blásticas. Isso se explicaria uma vez que se tem descrito a relação da nandrolona com a proteína NUMB, a qual participa em várias vias de sinalização envolvendo Notch, Hedgehog e p53, conhecidas como diferenciadoras e/ou apoptóticas. Nesse sentido, há o relato de Paydas S, em 2009, de regressão de LLC em uma paciente com o uso de inibidor de aromatase. Por outro lado, os inibidores de aromatase têm também sido relacionados à ativação de linfócitos NK e liberação de citocinas, promovendo resposta inflamatória e imunomodulação. Adicionalmente, no presente caso o G-CSF e o próprio quadro séptico podem também ter aumentado a resposta imune contra a LA. Estudos são necessários para elucidar o papel dos inibidores de aromatase em neoplasias hematológicas.

0475

Estudo da frequência de alterações cromossômicas em pacientes com leucemia aguda diagnosticados por citometria de fluxo e admitidos na Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (2010-2012)

Corrêa JA^{1,2}, Matos CL^{1,3}, Machado LF⁴, Ferreira YA⁴, Alves EB^{1,4}, Santos AM⁴

¹ Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, Manaus, AM

² Universidade Estadual do Amazonas – UEA, Manaus, AM

³ UniCEL - Faculdade Literatus, Manaus, AM

⁴ Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - HEMO-AM, Manaus, AM

Introdução: A disponibilidade dos estudos dos cromossomos propiciou avanço no estudo das hemopatias malignas, tornando-os indispensáveis às decisões relativas a diagnóstico, prognóstico, tratamento e monitoramento deste grupo de doenças. **Objetivo:** Conhecer a frequência de alterações cromossômicas em pacientes com leucemia aguda *de novo* admitidos na Fundação Hemoam. **Métodos:** Estudo retrospectivo e prospectivo, observacional de 241 pacientes com leucemia aguda admitidos na Fundação Hemoam no período de Janeiro de 2010 a Junho de 2012, independente de sexo e faixa etária. Dados laboratoriais obtidos dos livros de registros dos laboratórios de citogenética e marcadores celulares e das solicitações médicas. O estudo cromossômico foi realizado pela técnica de banda G e a classificação da leucemia pela imunofenotipagem por citometria de fluxo. **Resultados:** Foram diagnosticados 241 pacientes com leucemia aguda *de novo*, idade média de 23,9 anos (range de 1 mês a 103 anos), gênero masculino (137 – 53,8%). Cariótipo foi realizado em apenas 103 (42,7%) pacientes onde 75 (72,8%) apresentaram cultura positiva. Entre estas, 46 (61,3%) foram normais e 29 (38,7%) anormais. O grupo anormal, foi constituído por 8 crianças (27,6%) e 21 adultos (72,4%). Entre as crianças, o cromossomo Filadélfia e as alterações do 11q23 foram as mais frequentes e em adultos a t(15;17) e a t(9;22). Houve 1 cariótipo com hiperdiploidia (4756 cromossomos) com envolvimento dos cromossomos 7 (deleção) e trissomias dos cromossomos 3, 4, 6, 12, 14, 16, 18, 21 e 22 e 1 com hipodiploidia (43 cromossomos). Cariótipo anormal na LLA ocorreu em 12 casos, sendo 8 (66,7%) entre adultos (21 a 57 anos) e 4 (33,3%) entre crianças (2 a 15 anos). De acordo com o fenótipo, o subtipo mais prevalente entre as LLAs foi a pré-B, (4 casos) e entre as LMAs a M3 (6 casos). Em nossa casuística houve apenas 1 caso de LLA T. Na LLA, 3 casos apresentaram coexpressão anômala de antígenos mielóides (CD13 e/ou CD33) e em 1 deles, havia a t(9;22). LMA ocorreu em 17 casos, sendo 4 (23,5%) entre crianças (3 a 16 anos) e 13 (76,5%) entre adultos (19 a 82 anos). Entre adultos observamos uma maior variedade de alterações genéticas quando comparamos com o grupo infantil. LMA M3 foi o tipo mais prevalente. Outros subtipos foram LMA M0 (3 casos), LMA não classificada (3 casos), LMA M2 (2 casos) seguidos de LMA M1, LMA M5, LMA M7 (1 cada). Na LMA, antígenos linfóides coexpressos ocorreram em 3 casos onde 1 apresentou a expressão de CD7 e CD2 com CD3 negativo, e em 2 casos a expressão do CD19. HLADR foi expresso em um único caso de LMA M3. **Conclusão:** O material medular de pacientes com leucemia é instável quanto ao sucesso de cultivo celular porque tendem a não responder ao crescimento normal o que pode vir a justificar a não obtenção de cromossomos metafásicos em 31,1% dos casos. Se faz necessário a implantação de tecnologias moleculares com maior sensibilidade para aperfeiçoar o estudo dos cromossomos.

LEUCÓCITOS, INFLAMAÇÃO, INFECÇÃO E IMUNOLOGIA

0476

Quantificação de células NK e NKT em indivíduos adultos saudáveis por citometria de fluxo

Rudolf-Oliveira RC, Goncalves KT, Martignago ML, Mengatto V, Gaspar PC, Ferreira AS, Moraes AC, Bazzo ML, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

Introdução e objetivo: As células NK (CD56+ CD16+ CD3 negativo) pertencem à linhagem linfóide e têm papel importante na resposta imune inata. Essas células atuam na lise de células tumorais e de células infectadas por vírus e parasitas intracelulares, por meio de mecanismos citotóxicos. Outro grupo de células, as NKT, se caracteriza fenotipicamente pela presença dos marcadores CD56+ e CD3+; entretanto, apesar de possuírem marcadores comuns às células NK e aos linfócitos T, quando comparadas a essas populações apresentam algumas características e funções diferentes, como a imunorregulatória. Os valores das células NK e NKT podem estar alterados em certas condições fisiológicas, como no exercício físico e na gestação, e em algumas condições patológicas, como no aborto de repetição e nos indivíduos infectados pelo vírus HIV. No entanto, na literatura, há escassos trabalhos demonstrando valores de referência para as células NK e NKT em amostras de sangue periférico. Assim, o objetivo deste trabalho foi quantificar as células NK e NKT por citometria de fluxo em indivíduos adultos saudáveis.

Métodos: Avaliou-se um total de 238 amostras de sangue periférico de adultos saudáveis (56,3% homens e 43,7% mulheres), não fumantes, randomicamente selecionados no Serviço de Hemoterapia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, no período de março de 2011 a março de 2012. Os valores absolutos dos linfócitos NK e NKT foram obtidos por citometria de fluxo utilizando-se a metodologia de plataforma dupla. **Resultados:** O valor da mediana da contagem relativa das células NK encontrado na população estudada foi de 10,5%, com intervalo de referência de 3,1% a 27,4%. A mediana do valor absoluto foi de 222 células/mm³, com intervalo de referência de 70 células/mm³ a 745 células/mm³. Além disso, foi observado que as contagens das células NK apresentaram valores superiores em indivíduos do gênero masculino, tanto para valores relativos quanto absolutos. O valor da mediana da contagem relativa das células NKT encontrado na população estudada foi de 6,0%, com intervalo de referência entre 0,9% e 21,4%. A mediana do valor absoluto foi de 134 células/mm³, com intervalo de referência de 18 células/mm³ a 488 células/mm³. Na avaliação das contagens das células NKT quanto ao gênero, não houve diferenças estatisticamente significativas para valores relativos e absolutos. **Discussão:** Em relação à quantificação das células NK, os valores relativos assemelham-se àqueles encontrados na Itália, Alemanha, Burkina Faso, Malásia, China e Índia. No entanto, é possível perceber uma grande diferença entre o presente estudo e os valores absolutos observados na Turquia e Burkina Faso. Em relação à quantificação das células NKT, até o presente momento, foi encontrado apenas um estudo que avaliou o valor de referência dessas células. Nesse estudo, realizado no México, ao contrário do observado no presente estudo, houve diferença estatisticamente significativa entre os gêneros masculino e feminino. Além disso, percebe-se também que os valores encontrados no México são muito distintos daqueles obtidos na população de Santa Catarina. **Conclusão:** Os valores de referência das células linfocitárias diferem entre as populações. Em vista disso, devem ser determinados separadamente nas populações dos diferentes países para melhor diagnosticar e monitorar as doenças.

0477

Linfócito com inclusão metacromática circundada por espaços claros, célula de Gasser: um biomarcador utilizado na terapia de reposição enzimática com galsufase em pacientes com MPS VI

Melo MA¹, Kerstenetzky MS², Silveira CM¹, Muniz MT³, Cavalcanti MD³¹ Laboratório Marcelo Magalhães, Recife, PE² Hospital Barão de Lucena, Recife, PE³ Universidade de Pernambuco - UPE, Recife, PE

Objetivos: As mucopolissacaridoses (MPS) são um grupo de distúrbios hereditários que resultam na deficiência de uma ou mais enzimas lisossomais necessárias para o catabolismo dos glicosaminoglicano (GAG). A MPS tipo VI (síndrome de Maroteaux-Lamy) é o único tipo que apresenta inclusões em leucócitos (anomalia de Alder-Reilly). Os linfócitos com essas inclusões são chamados de células de Gasser (linfócito com inclusão metacromática circundada por espaços claros). Este estudo com 14 pacientes com MPS tipo VI realizou contagens de células de Gasser antes e após 6 meses do tratamento de reposição enzimática (TRE) com Galsufase. **Métodos:** O estudo foi realizado com 14 pacientes portadores de MPS VI tratados no Centro de Erros inatos do Metabolismo do Hospital Barão de Lucena, em Recife - Pernambuco, Brasil, a partir de agosto de 2007 a outubro de 2011. Os hemogramas foram realizados usando o corante May- Grunwald, para contagem de células de Gasser antes e após 6 meses a partir do início da TRE e foi obtido as percentagem destas células em 100 linfócitos contados em uma ou mais lâminas. As células de Gasser foram contadas por meio de microscopia óptica no sangue periférico. A média de idade dos 14 pacientes antes TRE foi de 8,5 anos (Ranger de 8 meses a 32 anos e 6 meses) entre os pacientes, seis eram do sexo masculino e 10 do sexo feminino. **Resultados:** Observou-se a presença das células de Gasser em todos os pacientes estudados, com uma média de 12,7 células por paciente antes da TRE. Também foi observado a presença da anomalia de Alder-Reilly em todos os pacientes estudados. Após 6 meses de tratamento foi também observada no hemograma a presença de inclusões de Alder-Reilly nos neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos em todos os 14 pacientes estudados, e o desaparecimento total dos linfócitos com inclusões (Célula Gasser). **Conclusão:** Este estudo demonstrou uma associação entre a TRE com Galsufase para MPS tipo VI, e a remoção das células de Gasser 6 meses após o início da terapia, provando ser um biomarcador efetivo e pouco invasivo.

0478

Pacientes com Síndrome De Sanfilippo apresentam linfócitos com grandes inclusões citoplasmáticas no sangue periférico

Melo MA¹, Kerstenetzky MS², Silveira CM¹, Muniz MT³, Cavalcanti MD³, Medeiros PF⁴¹ Laboratório Marcelo Magalhães, Recife, PE² Hospital Barão de Lucena, Recife, PE³ Universidade de Pernambuco - UPE, Recife, PE⁴ Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Campina Grande, PB

Objetivo: O objetivo deste estudo é demonstrar a presença de grandes inclusões citoplasmáticas em linfócitos do sangue periférico de pacientes com síndrome de Sanfilippo ou mucopolissacaridose tipo III, observada em esfregaços de sangue de três pacientes previamente diagnosticados por testes laboratoriais. Com a possível acumulação do glicosaminoglicano (GAG) sulfato

de heparan nos linfócitos, torna este achado como um marcador para o diagnóstico da doença e para responder a uma futura terapia de substituição enzimática. A síndrome de Sanfilippo é um distúrbio de armazenamento lisossomal autossômico recessivo do (GAG) heparano sulfato, causadas por mutações nos genes que codificam as enzimas que metabolizam esta substância. Este síndrome é dividida em quatro tipos; MPS tipo IIIA, IIIB, IIIC e IIID, variando de acordo com a enzima deficiente, no entanto, o GAG acumulado é o mesmo. Atualmente não há tratamento específico para a síndrome de Sanfilippo, e os estudos para a terapia de reposição enzimática estão ainda em fase inicial. Os linfócitos são excelentes marcadores de exposição ao acúmulo de substratos, isso porque essas células circulam por anos ou mesmo décadas através de diferentes órgãos, acumulando o substrato em excesso, um fenômeno também observado neste subtipo. **Métodos:** As contagens foram obtidas a partir da coleta do sangue de três pacientes com síndrome de Sanfilippo pelo sistema vacutainer em um tubo contendo EDTA (ácido etilendiaminotetracético), vários esfregaços de sangue foram feitos no momento da coleta, as lâminas foram coradas pelo corante May-Grunwald - Wright e analisados sob um microscópio óptico em aumento de 100X. O teste para a contagem dos linfócitos com inclusões consiste em uma avaliação em 100 linfócitos no sangue periférico em uma ou mais lâminas, observando a percentagem de linfócitos com as grandes inclusões citoplasmáticas. **Resultados:** A frequência de grandes inclusões citoplasmáticas em linfócitos de três pacientes com síndrome de Sanfilippo, mostrou uma variação entre os Resultados analisados: o primeiro paciente, de 9 anos, sexo masculino do subtipo IIIA apresentou um percentual de 28% de linfócitos contados com essas inclusões, o segundo paciente com o subtipo IIIC, 6 anos de idade, do sexo masculino apresentou uma percentagem de 17%, e o terceiro paciente com o subtipo IIIC, 10 anos sexo feminino, a percentagem foi de 12% de linfócitos grande demonstrando inclusões citoplasmáticas. Observou-se que os três pacientes apresentaram uma média de linfócitos com grandes inclusões citoplasmáticas de 19%. **Conclusão:** A síndrome de Sanfilippo é um subtipo de mucopolissacaridose que apresenta pequenas alterações físicas, isso porque o GAG sulfato de heparan é acumulado e depositado exclusivamente na área intratecal, promovendo distúrbios de regressão neurológicas e comportamentais nos pacientes. Os linfócitos descritos podem ser utilizados como biomarcadores de triagem para o diagnóstico da doença e um futuro biomarcador de resposta ao tratamento, uma vez que estas inclusões são compostas pelo substrato da doença (sulfato de heparan).

0479

Gangliosidose: investigação diagnóstica através dos linfócitos com inclusões "Like-Vacuolo" e eosinófilos anômalos no sangue periférico

Silveira CM¹, Melo MA¹, Kerstenetzky MS²¹ Laboratório Marcelo Magalhães, Recife, PE² Hospital Barão de Lucena, Recife, PE

Objetivos: O objetivo deste estudo é demonstrar a presença linfócitos com inclusões de mucopolídeo denominadas "like-vacuolo", como também a presença de eosinófilos anômalos, encontradas apenas nesse tipo de doença de depósitos lisossômicos (DDL). A gangliosidose GM1 ou doença de Norman-Landing é uma DDL que causa o acúmulo de um esfingolípido, o gangliosídeo no interior das células, tecidos e órgãos, devido à deficiência da enzima lisossômica β -galactosidase (β -Gal). Esta enzima é responsável pela remoção de resíduos de galactose provenientes de glicoproteínas, esfingolípídeos e sulfato queratina. A incidência estimada da doença é de 1 caso para 100.000 - 200.000 nascidos vivos, entretanto locais como o Brasil, Ilhas Maltese e a população de Roma possuem uma frequência maior que a esperada. É uma das doenças

de depósitos mais frequentes no Brasil, com frequência estimada de 1: 17.000. **Métodos:** Para a realização do hemograma e pesquisa dos linfócitos com inclusões e eosinófilos anômalos, foram coletados 5 mL de sangue periférico pelo sistema vacutainer em um tubo contendo o anticoagulante EDTA (ácido etilendiamino tetra-acético), em seguida foi confeccionado o esfregaço sanguíneo no ato da coleta, a lâmina foi corada pelo corante do tipo May-Gruwald/Write, e analisada em microscópio óptico em aumento de 2.000X. A contagem total e diferencial das células foi realizada pelo contador hematológico Beckman-Coulter GEN'S. **Resultados:** Foi observado no esfregaço do sangue periférico de 3 pacientes portadores de GM1 a presença de linfócitos com inclusões de mucopolídeo denominadas "like-vacuolo", como também a presença de eosinófilos anômalos, encontradas apenas nesse tipo de DDL. Esses achados citológicos foram determinantes para a investigação do diagnóstico, confirmado pelo teste enzimático para a gangliosidose GM1. **Conclusão:** A gangliosidose GM1 é uma doença de depósito lisossômico de difícil diagnóstico, isso porque os sintomas clínicos da doença são observados também em outras doenças, obscurecendo assim o verdadeiro diagnóstico. A presença de linfócitos com inclusões de mucopolídeo denominadas "like-vacuolo", como também a presença de eosinófilos anômalos, sugerem uma investigação diagnóstica de deficiência enzimática para gangliosidose.

0480

Linfócitos com núcleo lobulado no sangue periférico em pacientes com teste positivo da reação em cadeia da polimerase para *Bordetella pertussis* - coqueluche

Melo MA¹, Silveira CM¹, Kerstenetzky MS²

¹ Laboratório Marcelo Magalhães, Recife, PE

² Hospital Barão de Lucena, Recife, PE

Objetivos: O objetivo desse estudo é comprovar a presença de linfócitos com núcleos lobulados no sangue periférico, geralmente acompanhada de evidente linfocitose, em pacientes com a coqueluche, confirmada pelo teste de reação em cadeia da polimerase (PCR) para *Bordetella pertussis*. A coqueluche é uma doença infecciosa aguda e altamente comunicável, que é caracterizada por paroxismos de tosse violenta acompanhada por um "estridor" inspiratório alto, e mata centenas de milhares de crianças a cada ano no mundo. Além de atingir as crianças ainda não completamente imunizadas (menores de 6 meses), a coqueluche afeta também crianças vacinadas maiores de quatro anos de idade, adolescentes e adultos, que perderam a imunidade adquirida por meio da vacina, na ausência de reforços vacinais. **Métodos:** O Center for disease control (CDC) dos EUA preconiza a realização da cultura e do PCR para o diagnóstico da Coqueluche. Até a terceira semana do início da tosse ou até a quarta semana do início dos sintomas. O teste PCR tem a vantagem de ser mais sensível que a cultura e detectar pequenas quantidades do microorganismo. Para a realização do hemograma e PCR foram coletados 5 mL de sangue periférico pelo sistema vacutainer em um tubo contendo o anticoagulante EDTA (ácido etilendiamino tetra-acético), em seguida foi confeccionado o esfregaço sanguíneo no ato da coleta, a lâmina foi corada pelo corante do tipo May-Gruwald/Write, e analisada em microscópio óptico em aumento de 2.000X. A contagem total e diferencial das células foi realizada pelo contador hematológico Beckman-Coulter GEN'S. **Resultados:** Foi observado em 10 pacientes com coqueluche, confirmados pelo teste PCR para *Bordetella pertussis*, a presença de linfocitose não reativa, geralmente acima de 90%, e acentuada leucocitose, com contagens superiores a 50.000/mm³, e no estudo morfológico celular foi observado a presença de linfócitos com núcleos lobulados no sangue periférico em todos os pacientes, tipo de atipia não observada em outras enfermidades. **Conclusão:** Em pacientes com paroxismos de tosse violenta acompanhada por um

"estridor" inspiratório alto, a presença no sangue periférico dos linfócitos com núcleos lobulados e evidente leucocitose com linfocitose, sugere a investigação pelo teste de PCR para *Bordetella pertussis*.

0481

Caracterização dos episódios de neutropenia febril pós-quimioterapia em pacientes portadores de leucemia mieloide aguda internados no HU-UFSC entre 2001 e 2009

Zimmermann NA^{1,2,3}, Marasciulo AC^{1,2}, Macedo AB^{1,2}, Debona R^{1,2,3}, Molim BCN^{1,2,3}, Durigon GS^{1,2,3}, Gaspareto PB^{1,2,3}, Fermino FA^{1,2,3}

¹ Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

² Hospital Universitário, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

³ Serviço de Hematologia, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) corresponde a cerca de 80% das leucemias agudas em adultos e o seu tratamento é baseado em quimioterapia. Dentre os efeitos adversos do tratamento, destaca-se a neutropenia, que predispõe ao surgimento de infecções graves e a uma maior morbimortalidade. É definida pela contagem absoluta de neutrófilos (CAN) abaixo de 500 células/mm³ ou que se espera estar abaixo de 500 células/mm³ dentro de 48 horas. Pacientes com LMA costumam passar por um período prolongado, de 2 a 4 semanas, de neutropenia, aumentando o risco de infecções. Desde a introdução empírica de antibióticos de amplo espectro em pacientes neutropênicos febris, a taxa de mortalidade caiu significativamente. **Objetivos:** Descrever as características locais das infecções e óbitos associados à neutropenia febril em pacientes portadores de LMA submetidos à quimioterapia citotóxica no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC). **Métodos:** Este estudo tem caráter descritivo retrospectivo, com dados referentes a pacientes internados de 01 de janeiro de 2001 a 31 de dezembro de 2009 na enfermaria de hematologia do HU-UFSC. As variáveis analisadas foram idade, sexo, infecção definida clinicamente, sítios de infecção, infecção documentada laboratorialmente, Resultados laboratoriais, classificação do microorganismo, evolução em 30 dias após a quimioterapia e causa do óbito. Obteve-se a frequência absoluta e relativa dos Resultados avaliados pelo programa Excel. **Resultados:** Na amostra de 59 pacientes, 33 eram do sexo masculino e a média de idade foi de 47,69 anos. Houve 107 episódios de neutropenia febril. Os episódios com infecções definidas clinicamente corresponderam a 45,8% do total, sendo cavidade oral e pulmão os sítios mais frequentes. A maioria das hemoculturas (74,2%) foi positiva para gram-negativos. Em 15,9% dos episódios não se encontrou causa para a febre. Vinte pacientes foram a óbito, sendo a maioria por causas infecciosas. **Discussão:** A literatura sobre neutropenia febril é muito extensa e heterogênea. Em relação aos sítios de infecção detectados clinicamente, Rókus *et al* estudou 52 pacientes neutropênicos febris com malignidades hematológicas, o sítio de infecção mais comum foi o pulmão, responsável por 42% das infecções encontradas. Quanto aos Resultados referentes às hemoculturas. Em nosso estudo verificou-se positividade de 30,43%. Syrjälä *et al* publicaram, em 2010, um estudo com 327 pacientes portadores de LMA, no qual detectaram 956 episódios de NF, dos quais 456 (47,7%), tinham hemoculturas positivas. O estudo de Rókus *et al* demonstrou 37,7% de positividade. Também, em estudos realizados pelo grupo EORTC-IATG, observou-se predomínio de bacteremia por gram-negativos entre 1973 e 1985. A partir de 1986, ocorreu a inversão do padrão de microorganismos, predominando gram-positivos. As taxas de letalidade em diferentes estudos variaram entre 12 a 36% nesses pacientes. **Conclusões:** A frequência de infecções definidas clínica-

mente foi de 45,8%, sendo cavidade oral e pulmão os sítios mais frequentes. A frequência de infecções definidas laboratorialmente foi de 38,3%, predominando bactérias gram-negativas. A taxa de letalidade foi de 33,89%. A principal causa de óbito foi infecção (55,55%), cujo principal foco foi pulmonar (50%).

0482

Hemovigilância tardia de doenças infecciosas transmissíveis no Hemocentro Regional de Uberaba no período de 2004 a 2011

Martins RA¹, Martins PR², Barbosa VF¹, Pereira GA¹, Souza HM¹¹ Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG² Hemocentro Regional de Uberaba, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais – Hemominas, Uberaba, MG

Resumo: Hemovigilância é um conjunto de procedimentos de avaliação e o alerta de toda cadeia transfusional. Analisa os efeitos indesejáveis do uso terapêutico de hemocomponentes e previni sua ocorrência ou recorrência. Os Objetivos do estudo foram avaliar o índice de hemovigilância tardia de acordo com: idade, estado civil e cor; as variações anuais da abertura de processos; o número de processos abertos e fechados; soroconversão de doadores e possíveis receptores de hemocomponentes dentro da janela imunológica. Estudo retrospectivo. Dados analisados através do teste Chi-Quadrado, *Odds Ratio* e regressão. De 2004 a 2011 o HRU coletou 117857 bolsas, 284 (0,24%) entraram no processo de hemovigilância, com predomínio de menores 29 anos, solteiros e não brancos. Sendo estatisticamente significativos a faixa etária ($p < 0,0001$), estado civil ($p = 0,0002$) e cor ($p < 0,0001$). Verificou-se comportamento estatisticamente semelhante do percentual de hemovigilância entre os gêneros masculino e feminino (0,24% e 0,23% respectivamente, $p = 0,951$). Observou-se uma tendência crescente de abertura de processo até 2008 seguida por uma tendência de queda até 2011, comportamento este explicado 95,87% por um polinômio de grau 4. Ocorreram doze casos de soroconversão em doações posteriores com uma contaminação por HIV comprovada após triagem do receptor. Sete para HIV, quatro para hepatite B e uma para hepatite C sem contaminação. A maior frequência de hemovigilância em doadores abaixo de 29 anos, solteiros e não branco mostrou-se significativa. A tendência crescente do índice de hemovigilância tardia até o ano de 2008 é explicada por fatores comportamentais como: início de um processo recém-implantado e subnotificação, enquanto que a partir de 2008 até 2011 a tendência de queda pode ser explicada por maior conscientização populacional e fidelização dos doadores. Os doze casos de soroconversão em doadores, com uma contaminação comprovada em receptores reforça a importância dessa ferramenta no aumento da segurança transfusional. **Palavras-chave:** Doação de sangue, Hemovigilância, Sorologia positiva, Segurança transfusional.

0483

Expressão das proteínas reguladoras do complemento CD55, CD59, CD46 e CD35 na superfície das células sanguíneas

Schneider L^{1,2}, Alegretti AP^{1,3}, Schneider L^{1,3}, Rotta LN²¹ Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS² Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA, Porto Alegre, RS³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

CD55, CD59, CD46 e CD35 são proteínas de membrana que apresentam propriedades reguladoras do sistema complemento (SC). A deficiência na expressão destas proteínas reguladoras do complemento (Cregs) está associada a uma menor proteção contra a ativação do SC, levando à lise e morte celular, acarretando em anemias, trombocitopenias, linfopenias e/ou neutropenias. Algumas patologias estão associadas com a diminuição da expressão dessas proteínas em diferentes subtipos celulares; como a hemoglobinúria paroxística noturna, anemia aplásica, síndrome mielodisplásica e algumas doenças autoimunes. Contudo, o padrão de expressão destas Cregs em indivíduos saudáveis ainda não está bem estabelecido na literatura e necessitam ser melhor estudadas. O objetivo deste estudo foi avaliar a distribuição da expressão de proteínas reguladoras do complemento (CD55/CD59/CD46/CD35) na superfície das células sanguíneas de indivíduos saudáveis. Foram realizadas análises por citometria de fluxo em leucócitos e eritrócitos de 62 voluntários doadores do banco de sangue. Participaram deste estudo 61 doadores de sangue que não apresentaram nenhuma alteração no hemograma; destes, foram analisados, por citometria de fluxo, os leucócitos (56 indivíduos: 41M, 15H) e os eritrócitos (31 indivíduos: 17M, 14H). Esta população apresentou idade mediana de 45 anos (IQ25/75%: 29-61). A proporção (%) média de células CD55+ foi de: linfócitos (L): 94,61% ($\pm 3,94$), monócitos (M): 99,78% ($\pm 0,32$), neutrófilos (N): 99,92% ($\pm 0,15$); % de células CD59+: L: 84,45% ($\pm 7,86$), M: 71,20% ($\pm 13,73$) e N: 99,79% ($\pm 0,23$); % de células CD46+: L: 98,70% ($\pm 1,35$), M: 99,30% ($\pm 1,81$), e N: 99,96% ($\pm 0,07$); % de células CD35+: L: 18,55% ($\pm 6,79$), M: 97,62% ($\pm 1,82$), N: 99,95% ($\pm 0,10$). Já nos eritrócitos (E), % de células CD55+ foi de 100% ($\pm 0,01$); CD59+: 99,91% ($\pm 0,07$) e CD35+: 86,84% ($\pm 8,15$); os eritrócitos não expressaram CD46 em sua membrana. Comparando a intensidade de expressão das Cregs através da intensidade média de fluorescência (IMF), as seguintes células expressam mais (>) ou igual intensidade (=) estatisticamente significativa: CD55: M>N>L; CD59: N>L>M; CD46: N>L>M; CD35: M=N>L. Neste estudo, foi possível observar que existe diferença na expressão de Cregs na membrana de leucócitos de indivíduos saudáveis; sendo que os leucócitos apresentaram mesma % de células CD55+, CD46+, contudo, os M apresentaram menos células CD59+ e os L menos células CD35+. Em termos de intensidade de fluorescência (proporcional a expressão de epítomos na membrana), os L apresentaram menor IMF para CD55 e CD46 e CD35.

0484

Goma sífilítica gástrica (tipo raro de sífilis terciária): diagnóstico diferencial com linfoma: relato de caso

Musacchio JG¹, Mercante D¹, Pizzino C¹, Lavelle A¹, Hori M¹, Apa A¹, Romano S²¹ Clínicas Oncológicas Integradas – COI, Rio de Janeiro, RJ² Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Paciente do sexo masculino, 47 anos, apresentando náuseas e desconforto epigástrico há cerca de 3 meses. Relato de emagrecimento de 9 kg. Realizou endoscopia digestiva alta que revelou inúmeras ulceracões entremeadas com mucosa infiltrada, endurecida, edemaciada, enantemática e friável no antro, sugerindo processo neoplásico e sendo realizadas inúmeras biópsias. O laudo histopatológico inicial foi sugestivo de linfoma. Solicitada revisão de lâminas da biópsia gástrica e exames de imagem e laboratoriais, inclusive sorologias para hepatite B, C, HIV e sífilis. A revisão de lâmina mostrou infiltração de linfócitos com negatividade para CD20, com presença de plasmócitos policlonais com positividade para IgG de cadeia leve kappa e lambda, não sendo conclusiva para doença linfoproliferativa. Feita ultrassonografia de região cervical, tomografias computadorizadas de tórax, ab-

dome e pelve sem a presença de linfadenomegalias. Os exames laboratoriais revelaram hemograma normal com contagem normal de linfócitos, sorologias negativas para hepatite B, C e HIV, porém o exame de VDRL foi positivo até a diluição de 1: 32. Logo após a realização dos exames, o paciente evoluiu com visão turva, tendo procurado oftalmologista e sendo feito o diagnóstico de uveíte por sífilis. Foi prontamente internado e prescrita penicilina procaína por 14 dias. Realizado exame de líquido que foi negativo para sífilis. Ao diagnóstico, o paciente não apresentava lesões cutâneas ou ósseas. Solicitada nova endoscopia digestiva alta após o tratamento antibiótico cujo laudo descreveu a presença de lesões cicatriciais das lesões ulceradas gástricas em antrum. A biópsia foi compatível com gastrite crônica com atividade moderada em mucosa de corpo e antrum. *H. pylori* negativo. No momento está assintomático, sem quaisquer sinais e sintomas, com ganho de peso, sendo o último exame de VDRL 1: 8. A goma sífilítica, uma manifestação rara de sífilis terciária, é um importante diagnóstico diferencial de doença linfoproliferativa em mucosa, mesmo sem outras lesões em pele ou osso. Desta forma, torna-se imperativa a solicitação de sorologia para sífilis em pacientes com proliferação linfoplasmocitária, a fim de se evitar diagnóstico e tratamento errôneos.

0485

Caracterização de RHD fraco e parcial por técnicas moleculares em uma população do Paraná, sul do Brasil

Pereira EM, Guelsin GA, Melo FC, Macedo LC, Visentainer JE, Sell AM

Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá, PR

O sistema de grupo sanguíneo Rh (ISBT 004.001) é altamente imunogênico. A sua identificação é importante na medicina transfusional, devido à aloimunização em transfusões incompatíveis e envolvimento na doença hemolítica perinatal. Mutações no gene *RHD* conduzem a alterações qualitativas e quantitativas na expressão do antígeno RhD, culminando na formação de fenótipos variantes. O fenótipo RhD fraco ocorre em função da redução da expressão do antígeno RhD na superfície dos eritrócitos, enquanto que o fenótipo RhD parcial manifesta-se como consequência de alterações em aminoácidos extracelulares, que levam a formação de novos epítopos. Por seu importante papel em suprir as limitações sorológicas e consequentemente por auxiliar na escolha das estratégias transfusionais, o conhecimento das frequências das variantes RhD tornou-se um importante aliado na clínica. O objetivo desse trabalho foi a determinação de variantes *RHD* parcial e fraco em uma população do Sul do Brasil, por técnicas de biologia molecular. Amostras do sangue periférico de 400 voluntários, doadores de sangue e de medula óssea atendidos pelo Hemocentro Regional de Maringá, foram coletadas com EDTA, após assinatura de termo de consentimento. O DNA foi extraído por meio dos kits comerciais EZ-DNA (Biological Industries™) ou QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen). Apenas as amostras genotipadas como *RHD* positivas foram utilizadas para a pesquisa das variantes RhD. A genotipagem das variantes de *RHD* foi realizada de acordo com protocolos previamente descritos (PCR-AS, PCR-M, PCR-RFLP). As frequências genotípicas foram obtidas por contagem direta. A distribuição dos genes encontrou-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Das amostras *RHD* positivas, *RHD**fraco tipo 1 e *RHD**fraco tipo 2 foram encontradas em 0,29%, *RHD**fraco tipo 3 em 1,74% e *RHD**fraco tipo 4 em 2,3%. A variante RhD parcial categoria D1Va, *RHD**DIV.1, esteve presente em 0,29% das amostras e a variante parcial DVa, *RHD**V.1 em 0,58%. A distribuição das frequências de *RHD* na população avaliada foi caracterizada. A genotipagem foi uma ferramenta útil para a avaliação de variantes *RHD*.

0486

In vitro generation of functional regulatory T cells from umbilical cord blood naïve T cells

Haddad R^{1,2,3}, Schiavinato JL^{1,2}, Saldanha-Araujo F⁴, Scheucher PS², Araújo AG², Rego EM^{1,2,3}, Covas DT^{1,2,3}, Zago MA^{1,2,3}, Panepucci RA^{1,2,3}

¹ National Institute of Science and Technology in Stem Cell and Cell Therapy - INCTC, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

⁴ Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília – UNB, Brasília, DF

The generation of induced regulatory T cells (iTregs) *ex-vivo* holds promise in the clinics, in light of its potential immunotherapeutic use in transplant rejection and autoimmune disorders. Although iTregs with suppressive potential have been successfully derived from mouse naïve T cells derived from PBMCs, results from human cells remains controversial. In contrast to PBMCs, where naïve T cells are scarce, in umbilical cord blood (UCB), T cells are mainly naïve. Another advantage of naïve T cells from UCB comes from its varied T Cell Receptors (TCRs) repertoire, unbiased by the lack of antigen encounter. These characteristics, together with the potential of cryopreservation and banking, make UCB an attractive source for the development of protocols for the *in vitro* generation of iTregs, rendering UCB an ideal source for fast clinical intervention. Here, we evaluated the potential generation of iTregs from UCB naïve T cells. In addition, we compared the expression of Treg markers on iTregs and on naturally occurring Tregs (nTregs) obtained from PBMCs. Additionally, we evaluated the ability of iTregs, to suppress the proliferation of activated T cells, as compared to nTregs. Immunomagnetically isolated CD4⁺CD25⁺CD45RA⁺ naïve cells from UCB were activated with anti-human CD2/CD3/CD28 beads (1: 2) in the presence of IL-2 (50 U/ml) with TGF-β (5 ng/ml) and atRA (100 nM) for 5 days. In parallel, PBMCs from 5 individuals were obtained for nTregs phenotypic characterization. CD4⁺-gated lymphocytes from culture and from PBMC were analyzed by flow cytometry for Treg markers (*FoxP3* and TNFR2) expression in the CD25⁺, CD25^{hi} and CD25^{lo} population. nTregs (CD4⁺CD25⁺CD127⁻) were immunomagnetically isolated from PBMCs and CD4⁺CD25^{hi} and CD4⁺CD25^{lo} populations were FACS-sorted from *in vitro* cultures. Proliferation of CD3⁺ T cells was evaluated by CFSE staining. The mean percentage of *FoxP3*⁺ cells in CD4⁺CD25^{hi} from culture was 98.5%, as compared to 82.4% in PBMCs. Interestingly, the percentage of *FoxP3*⁺ cells in total CD4⁺CD25⁺ was higher in cells from culture (97,3%) than on PBMCs (26,8%). Moreover, while the percentage of *FoxP3*⁺ cells in the CD4⁺CD25^{lo} population, was very low in PBMCs (2,8%), up to 55% of the cells derived from culture were *FoxP3*⁺. TNFR2, another Treg marker, was expressed mainly in cells from PBMCs; 40.5%, 79.6% and 95.6% TNFR2⁺ cells in CD4⁺CD25^{lo}, CD4⁺CD25⁺ and CD4⁺CD25^{hi} populations, respectively. In cells derived from culture, the expression was lower (0.7%, 12.4% and 8.7% for CD4⁺CD25^{lo}, CD4⁺CD25⁺ and CD4⁺CD25^{hi} respectively). The immunosuppression assay showed that, compared to activated Teff cells cultured alone, nTregs (CD4⁺CD25⁺CD127⁻) decreased the proliferation of CD3⁺ T effectors cells in 55%, while iTregs (CD4⁺CD25^{hi}) decreased the proliferation in 46%. Interestingly, the CD4⁺CD25^{lo} population from culture (which harbors 55% *FoxP3*⁺ cells) also decreased the proliferation of CD3⁺ T cells, but to a lower extent (21%). In summary, we show that functional *Foxp3*⁺CD4⁺CD25^{hi} T cells can be generated *in vitro* from UCB naïve T cells. Moreover, these cells were able to inhibit the proliferation of CD3⁺ T cells at levels comparable to those

observed with nTregs. Our protocol provides support for the generation of functional iTregs for potential clinical applications, such as the treatment of autoimmune diseases. **Support:** FAPESP, CNPq.

0487

Fatores que predisõem à síndrome de lise tumoral: uma revisão de literatura

Neves FF, Lira AR, Valenca DS, Lima MH, Monteiro PJ, Vale LL, Dantas SG, Pereira CC, Meira AT, Matis RL

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: A síndrome de lise tumoral (SLT) é uma emergência oncológica resultante da decomposição celular rápida do tumor e consequente liberação do conteúdo intracelular na circulação sistêmica. Acomete cerca de 5% a 20% dos pacientes com neoplasias e 4% a 42% dos pacientes em tratamento de doença maligna hematológica. Embora possa ocorrer espontaneamente, a SLT aparece em geral, após o início da quimioterapia. Os metabólitos liberados podem provocar hiperuricemia, hipercalemia, hiperfosfatemia e hipocalcemia, podendo surgir lesão renal aguda (LRA), convulsões e morte súbita. O distúrbio metabólico, após exclusão de outras causas, permite diagnosticar a SLT biológica e as manifestações clínicas diagnosticam a SLT clínica. **Objetivos:** Descrever os fatores que predisõem à SLT, dentre eles, as doenças malignas hematológicas, e fornecer recomendações para sua prevenção. **Métodos:** Realizou-se uma busca sistemática através dos bancos de dados "Portal Periódicos Capes" e "MEDLINE" utilizando-se as palavras "Síndrome de Lise Tumoral", "Tumor Lysis Syndrome"[and] "risks", "causes". Revisou-se 15 artigos, publicados nos últimos 10 anos. **Resultados:** A SLT raramente ocorre após tratamento com irradiação, corticóides, terapia hormonal ou biológica. Pacientes com tumores grandes, insuficiência renal/desidratação, hiperuricemia, hiperfosfatemia ou elevado nível de lactato desidrogenase (LDH) antes da terapia apresentam maior risco. A SLT se associa largamente ao tratamento de linfoma Burkitt, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielóide aguda, outros linfomas de alto grau, mieloma múltiplo e protocolos intensivos. As drogas relacionadas à SLT foram: inibidores adenosina desaminase, anticorpos monoclonais, cisplatina, citosina arabinosido, etoposido, metotrexato intratecal, paclitaxel e fator de necrose tumoral. A radioterapia também foi citada como fator predisponente e houve relato pós-quimioterapia ABVD. As malignidades hematológicas destacam-se pela maior incidência de SLT, inclusive nas ocorrências espontâneas. Três etapas de estratificação de risco foram diferenciadas para prevenir LRA: prevenção da SLT, prevenção das manifestações clínicas durante a SLT biológica e prevenção de disfunção adicional de órgãos. Há ainda um modelo de estratificação de risco, dividido em intermediário, alto e baixo, baseado no tipo de câncer, contagem de leucócitos e tipo de terapia. Também foi descrito que inicialmente deve-se determinar se há risco de SLT biológica; caso diagnosticada recomenda-se tratar; se há sinais clínicos, tem-se a SLT clínica, devendo-se continuar com a classificação e o tratamento integrado multidisciplinar; caso não haja a SLT biológica, faz-se uma avaliação cuidadosa do risco de SLT em desenvolvimento. Ainda evidenciou-se a monitoração de pesos diários, análise da produção de urina e parâmetros laboratoriais (ácido úrico, LDH, creatinina, potássio, fósforo, cálcio), além de eletrocardiograma, se houver hipercalemia, e transferência para unidade de terapia intensiva, caso haja risco de morte. **Conclusão:** Apesar do conhecimento disponível auxiliar na identificação de pacientes em risco a fim de evitar/minimizar a SLT, muitos ainda permanecem suscetíveis, seja por falta de monitoração ou por respostas imprevisíveis para regimes de medicamentos citotóxicos. Assim, o profissional deve estar atento para implementar estratégias de prevenção eficazes.

0488

Relato de caso de linfocitose B policlonal persistente

Schneider L, Marcondes NA, Siegle AL, Fernandes FB, Faulhaber GA

Laboratório de Hematologia Zanol

Introdução: A linfocitose B policlonal persistente é uma entidade rara que representa menos que 0,1% das reações linfocitárias, foi descrita primeiramente em por Gordon e cols. em 1982. É uma condição benigna de etiologia desconhecida que acomete principalmente em mulheres tabagistas de meia idade. Se caracteriza pela presença de linfocitose persistente por mais de 6 meses, linfócitos de aspecto ativado e com um percentual menor de linfócitos com núcleo bilobado no sangue periférico, IgM alto, IgG e IgA baixos e fenótipo HLA-DR7. **Relato de Caso:** Paciente feminina, 49 anos, tabagista pesada em uso 2 maços/dia, com linfocitose em investigação há 4 anos. Biópsia e aspirado de medula óssea anteriores apresentaram linfocitose com linfócitos reativos. Hemogramas no período revelam leucocitose com predomínio de linfócitos. Imunofenotipagem de sangue periférico demonstrou presença de 57,7% de linfócitos, dos quais 54% eram linfócitos B, sendo que 26,1% expressavam cadeias Kappa e 27,9% expressavam cadeias Lambda. O imunofenótipo desta população era CD19, CD20, CD38, CD11c, CD22, CD25, IgM (alta expressão) e cBCL2. O resultado e a clínica foram compatíveis com linfocitose B policlonal persistente. **Discussão:** A linfocitose B policlonal é uma síndrome que ocorre quase exclusivamente em mulheres adultas assintomáticas e fumantes, que normalmente não evolui para linfomas ou leucemias, não sendo considerada condição pré-maligna. A avaliação diagnóstica de linfocitose é baseada nos achados morfológicos, imunofenotípicos, citogenéticos e moleculares. A determinação da clonalidade B deve ser sempre realizada através da pesquisa de cadeias Kappa e Lambda na superfície dos linfócitos. A expressão dos diferentes marcadores de superfície e citoplasma se faz necessária para classificar as linfoproliferações B.

0489

Relato de Caso: a sobreposição de potenciais fatores causadores de citopenias dificultam a definição do nexo causal

Martins AV, Araujo LT, Campos FC, Oliveira AG, Zouain DS, Oliveira JM, Lopes MS, Oliveira HM, Cruz PF

Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG

Introdução: Na prática clínica, é difícil definir as causas de citopenias, uma vez que, na maioria das vezes, diversos fatores sabidamente causadores de citopenia se interpõem. Além disso, muitas vezes não sabemos o hemograma basal do paciente. **Relato de Caso:** Trata-se de V.H.A., masculino, 21 anos, previamente hígido, admitido no hospital em 5/5/12 devido à leucopenia com neutropenia, associada à plaquetopenia severa. Estava assintomático e negava qualquer manifestação hemorrágica ou febre. Exame físico normal. HP: Vacinado para hepatite B e A há 4 meses; IVAS há 2 meses; usando isotretinoína para tratamento de acne há um mês; exposição profissional a produtos de limpeza não especificados há 3 meses. Negou o uso de qualquer medicamento nos 6 meses precedentes. Paciente não apresentava hemograma prévio à admissão hospitalar. Exames relevantes na admissão: * 6/5/12: HB14,1 GL1.500 (S270 L825 L atípicos 69 M330 E15/mm³) PLT6.000 Ausência de alteração no coagulograma, função renal, hepática, provas inflamatórias, ácido úrico, eletroforese de proteína e desidrogenase láctica. Sorologias negativas para HIV, hepatites B e C, e para infecção aguda por CMV e EBV (IGG+ IGM-). Vitamina B12 normal. FAN reagente 1: 160, padrão nuclear

pontilhado fino. * 7/5/12 - US abdome: ausência de hepatoesplenomegalia e linfadenomegalia. - Mielograma: Medula óssea hiper celular. SE hiper celular com maturação normoblástica; SG hiper celular com maturação normoblástica (com parada de maturação em promielócitos); SLP sem alterações; hiperplasia megacariocítica, com formas basofílicas e plaquetogênicas. Não foram observados fungos ou parasitas. - Imunofenotipagem de MO: CD3+ (2,4%); CD19+ (1,5%); CD45+, CD13+, CD15+, CD16+, CD33+ (82%, sendo 11,3% componentes bem diferenciados e monocíticos 3,1%). A expressão homogênia do CD13 e CD16 demonstra alteração da maturação, apresentando aumento das formas imaturas. Não foram observados blastos. - Cariótipos: 46 XY [30] EVOLUÇÃO: Suspenso isotretinoina. Tratado com prednisona 1mg/dia, com boa resposta: 11/5/12 leucócitos ($2.700/\text{mm}^3$) e neutrófilos ($972/\text{mm}^3$) e plaquetas ($88.000/\text{mm}^3$), sendo iniciado esquema de redução gradual do medicamento. 30/5/12, readmitido sem nenhuma manifestação hemorrágica, com plaquetopenia ($5.000/\text{mm}^3$), leucócitos ($8600/\text{mm}^3$, Seg $7.998/\text{mm}^3$), em uso de prednisona 30mg/dia. Recebeu pulsoterapia com metilprednisolona 1g/dia x3 dias, apresentando aumento da contagem plaquetária ($85.000/\text{mm}^3$). **Discussão:** Trata-se de um quadro de citopenias provavelmente por mecanismo imunomediado (resposta à corticoterapia). Não é possível definir com exatidão a etiologia primária. A vacina para hepatite B, a infecção viral recente, o uso de isotretinoina e a presença de auto-anticorpos apontam para a possibilidade de etiologias múltiplas, todas convergindo para uma desregulação do sistema imunológico. **Conclusão:** O relato do caso acima retrata a dificuldade de se definir o agente causador das citopenias, reitera a importância de se realizar hemograma basal antes do início da isotretinoina e a necessidade de um acompanhamento seriado mensal para identificação de alterações prévias no hemograma e alterações precoces de toxicidade hematológica.

0490

Avaliação prospectiva da dosagem de proteínas moduladoras da integridade da barreira endotelial como biomarcadores da evolução para choque séptico em pacientes onco-hematológicos com neutropenia febril

Fiusa MM, Lima CC, Souza GR, Vigorito AC, Aranha FJ, Lorand-Metze IG, Annichino-Bizzacchi JM, Souza CA, Ev DP

Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: A neutropenia febril (NF) em pacientes com neoplasias hematológicas é caracterizada pelo alto risco de complicações da sepse. A utilização de escores clínicos como o MASCC permite a identificação de pacientes com baixo risco para complicações, mas é menos adequada para pacientes de alto risco, como a maioria dos portadores de neoplasias hematológicas. Ao mesmo tempo, a aplicação de biomarcadores de gravidade validados em não-neutropênicos é controversa em pacientes com NF. A quebra da barreira endotelial é um elemento chave no choque séptico, e proteínas envolvidas neste processo vêm sendo consideradas promissores biomarcadores de gravidade na sepse. Métodos avaliamos prospectivamente o valor da dosagem de VEGF-A, sFlt-1, Ang-1 e Ang-2 como biomarcadores da evolução para choque séptico em 120 pacientes com NF internados nas enfermarias de Hematologia e TMO do HC da UNICAMP entre março de 2011 e 2012. As amostras foram coletadas na manhã seguinte à entrada no estudo, junto com a coleta de exames de rotina. Foram avaliadas a evolução para choque séptico e mortalidade em 30 dias. Os Resultados foram comparados com marcadores de prognóstico clássicos da sepse. **Resultados:** Dos 99 pacientes que preencheram critérios de inclusão, 19,8% evoluíram com choque séptico. Não houve diferenças clínico-demográficas significativas entre pacientes com NF não complicada e choque

séptico. Os níveis séricos dos biomarcadores estudados nos grupos "NF não complicada" e "choque séptico" foram respectivamente: $131,6 \pm 235,8$ pg/ml e $75,34 \pm 51,24$ pg/ml ($p=0,28$) para o VEGF-A; $86,41 \pm 32,88$ pg/ml e $118,6 \pm 131,4$ pg/ml ($p=0,54$) para o s-Flt-1; 4112 ± 6946 pg/ml e 2183 ± 1788 pg/ml ($p=0,28$) para a Ang-1, 5856 ± 5640 pg/ml e 9769 ± 12049 ($p=0,03$) para a Ang-2. Devido a seus efeitos antagônicos na permeabilidade vascular, foi calculada a relação Ang-2/Ang-1, que foi de 1,99 no grupo NF não complicada e de 5,29 no grupo choque ($p=0,01$). A estimativa da acurácia diagnóstica da determinação da Ang-2 e da relação Ang-2/Ang-1 para a evolução para choque séptico foram respectivamente: $\text{AUC}=0,66$ (95%IC 0,53-0,79; $p=0,03$) e $\text{AUC}=0,68$ (95%IC 0,55-0,81, $p=0,01$). Utilizando-se a mediana dos valores obtidos para dicotomização, níveis elevados destes biomarcadores associaram-se a aumentos significativos do risco relativo de evolução para choque séptico: $\text{RR}=4$ (95%IC 1,3-12,0; $P=0,01$) para Ang-2 e $\text{RR}=4,2$ (95%IC 1,4-13,0 $P<0,01$) para Ang-2/Ang-1. O impacto destes parâmetros na mortalidade por sepse foi demonstrado através da curva de Kaplan-Meier. **Conclusão:** A elevação dos níveis séricos de Ang-2 e da relação Ang-2/Ang-1 está associada ao risco aumentado de choque séptico e mortalidade em pacientes com NF, mesmo quando coletada sob condições próximas às encontradas na prática clínica diária. A persistência da significância estatística desta associação em condições muito menos controladas que em estudos exploratórios sobre a acurácia diagnóstica de biomarcadores, ilustra a robustez da associação entre este importante modulador da integridade da barreira endotelial e a evolução para choque séptico. Esta informação apresenta importantes implicações clínicas tanto para o manejo quanto para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para o tratamento do choque séptico.

0491

Doença de Kikuchi-Fujimoto: relato de caso

Fonseca RL¹, Carneiro CP¹, Vasconcelos MC^{1,2}, Freitas MJ¹, Melo AL²

¹ Hospital Regional da Asa Norte, Brasília, DF

² Hospital de Base do Distrito Federal – HBDF, Brasília, DF

A doença de Kikuchi-Fujimoto, também chamada de linfadenite histiocítica necrotizante, é uma condição rara, benigna e auto-limitada, caracterizada por linfadenopatia e febre. A causa da doença ainda é desconhecida. Acomete principalmente mulheres jovens, previamente hígidas. Os linfonodos cervicais costumam ser os mais acometidos. O diagnóstico é feito com biópsia excisional de linfonodo, fazendo diagnóstico diferencial com linfoma, tuberculose e doença de Kawasaki. Relatamos um caso de doença de Kikuchi-Fujimoto em uma paciente de 35 anos, previamente hígida, que evoluiu com febre diária, linfonodomegalia e dispnéia aos esforços habituais. Ao exame físico, apresentava linfonodomegalias cervicais e axilares de cerca de 2 cm de diâmetro. Os exames laboratoriais evidenciaram leucopenia (2.800 leuc/ mm^3), LDH aumentado (233 U/L), beta 2 microglobulina elevada (3222 mg/ml), sorologias para EBV, CMV, rubéola, toxoplasmose, nenhuma destas com IgM positivo. Sorologias para HIV e sífilis negativas. Provas reumatológicas: FAN e FR negativas. O exame histológico do linfonodo cervical biopsiado revelou linfonodo com padrão arquitetural preservado e exibindo focos agregados de histiócitos, na maioria sem atividade fagocítica, com células exibindo, citoplasma amplo e homogêneo, com núcleo central e regular, com presença de focos de necrose, com restos celulares, sem a presença de neutrófilos, caracterizando assim o diagnóstico de doença de Kikuchi-Fujimoto. A paciente evoluiu com remissão espontânea dos sintomas após cerca de 45 dias de início do quadro. **Conclusão:** O caso ilustra uma paciente com doença de Kikuchi-Fujimoto com evolução favorável e auto-limitada, compatível com dados da literatura médica, embora casos de recorrência também tenham sido relatados.

0492

Análise das alterações do hemograma e o impacto da infecção pelo vírus na função hepática de pacientes com suspeita de dengue na emergência do Hospital Geral de Fortaleza CE

Souza IP, Arruda AB, Goncalves RP, Ferreira CM, Laurentino MR, Vitoriano BF, Portela MP, Barros AE, Santos FM, Nobre WF

Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

Introdução: A dengue é uma arbovirose que tem causado preocupação por ser um problema de saúde pública mundial. Estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) sugerem que 50 milhões de casos de infecção de dengue ocorrem anualmente, e aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas vivem em países com endemias de dengue. O agente etiológico da dengue pertence à família *Flaviviridae* e ao gênero *Flavivirus*, com quatro sorotipos: Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4. O objetivo deste trabalho foi analisar as alterações dos hemogramas e o impacto da infecção pelo vírus na função hepática de pacientes com suspeita de dengue na Emergência do Hospital Geral de Fortaleza. **Métodos:** Foram avaliados 102 pacientes no período de março a abril de 2011 e que apresentavam quadro clínico suspeito de dengue. Os pacientes foram encaminhados ao laboratório de patologia clínica do Hospital Geral de Fortaleza com solicitação de hemograma e das enzimas transaminase glutâmica oxalacética (TGO) e transaminase glutâmica pirúvica (TGP) para avaliação da função hepática. Foi realizado a análise através do programa Excel e pelo GraphPad Prism 5.0. com o teste não paramétrico de Mann Whiteny, com erro máximo adotado para os testes estatísticos de $\alpha = 5\%$ ($p < 0,05$). **Resultados:** Nossos Resultados mostraram que as principais alterações encontradas nos hemogramas dos pacientes com suspeita de dengue foram: plaquetopenia, leucopenia, linfocitose e presença de linfócitos atípicos. A alta porcentagem encontrada de casos com alterações das aminotransferases mostra a importância da avaliação hepática nos pacientes com suspeita de dengue. É possível que estas alterações hematológicas e hepáticas, tão comuns na dengue, não sejam os principais achados no início, dificultando assim o tratamento adequado da doença. **Conclusão:** É fundamental que sejam realizados exames específicos para o diagnóstico confirmatório da dengue, como testes de isolamento viral e sorológicos para pesquisa de anticorpos, já que trata-se de uma doença com sinais clínicos semelhantes aos de outras viroses.

0493

Correlação entre eosinofilia e parasitose nas crianças da Escola Municipal Profrancisca Silvera Gomes, Acaraú, CE

Souza IP¹, Arruda AB¹, Goncalves RP¹, Barros AE¹, Santos FM¹, Ferreira CM¹, Laurentino MR¹, Vitoriano BF¹, Souza RD², Junior JIA³

¹ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

² Lions Club de Acaraú, Acaraú, CE

³ Laboratório Laca Saúde, Acaraú, CE

Introdução: Eosinofilia é o aumento no número de eosinófilos no sangue periférico, relacionada principalmente às parasitoses e alergias. O aumento de eosinófilos em infecções por helmintos é bastante conhecido, porém esta condição parece ocorrer também na presença de protozoários. As infecções por parasitas acometem com maior frequência as crianças e adultos jovens, e a eosinofilia costuma ser constante e proporcional à infestação. O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de eosinofilia associada à parasitose em crianças da Escola Municipal Prof^a. Francisca Silvera Gomes. **Métodos:** Foram avaliadas 93 crianças da referida escola de am-

bos os sexos e idade variando de 4 a 8 anos. Para a realização do parasitológico de fezes os pacientes conduziram as amostras acondicionadas em depósitos de plásticos descartáveis contendo conservante, sendo realizados os Métodos de concentração por sedimentação de Holfmann e Wills. Os exames foram realizados no Laboratório Laca Saúde em Acaraú – Ceará. **Resultados:** Das crianças estudadas, 59,91% apresentaram eosinofilia. Dessas o tipo de parasitose predominante foi *Trichuris trichiura* (23,07%), seguido de *Ascaris lumbricoides* e *Giardia lamblia* com 15,38%, e apenas 16 crianças (17,2%) não apresentaram parasitos, sendo que 17 crianças (21,49%) apresentaram de 3 a 5 tipos de parasitoses. **Conclusão:** Do acima exposto, é notável o valor da eosinofilia para o diagnóstico das parasitoses intestinais. No entanto, existe certa necessidade de melhor esclarecer a importância que a observação das taxas de eosinófilos poderá ter para a suspeita e para o seguimento da evolução e dos Resultados terapêuticos alcançados em pacientes vítimas dessas infestações.

0494

Eosinofilia causada por paracoccidiodomicose. relato de um caso

Penhalver LL, Davila VL, Vecina AC, Assis JR, Ferrari G, Pasuld FL, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

A eosinofilia ou leucocitose eosinofílica é definida pelo aumento de eosinófilos acima de 400/mm³. O diagnóstico diferencial envolve as doenças mieloproliferativas crônicas, doença de Hodgkin e tumores metastáticos. Mais comumente a causa de eosinofilia se relaciona a quadros alérgicos (asma brônquica, rinite, urticária), parasitoses (amebíase, ascariíase, toxocaríase, etc), alergia a medicamentos além de doenças reumáticas e dermatológicas. Relatamos o caso de um paciente de 31 anos, branco, pintor de automóveis. Apresentava febre diária de 37,5 a 38°C, e cefaleia holocrânica há um mês. Observadas linfonodomegalias em região cervical e mamária. Colhido líquido com resultado normal e feita biópsia de linfonodo mamário. Sem outras queixas, não fazia uso de nenhum medicamento, exceto antitérmicos, sem história de doenças prévias. Por apresentar eosinofilia, foi encaminhado para interconsulta com a Hematologia. Hemograma mostrava anemia leve, microcítica e hipocrômica, com hemoglobina de 11,1 g/dl, VCM = 59,0 fl e HCM = 19,0 pg, e leucocitose, com 20270/mm³. Diferencial: Segmentados - 6689/mm³, Eosinófilos - 9526/mm³, Basófilos - 0/mm³, Linfócitos - 3040/mm³ e Monócitos - 1013/mm³. Reticulócitos - 100000/mm³. Contagem Plaquetária - 412000/mm³. Eletroforese de Hemoglobina - HbA1 = 93,9%, Hb Fetal = 1,0%, HbA2 = 5,2%. Ultrassom de abdome total - colecistopatia calcúlosa crônica, esplenomegalia e rim esquerdo não visualizado (ectopia? Agenesia?). No momento da consulta na Hematologia apresentou o laudo do exame anatomopatológico de linfonodo mamário. **Resultados:** exame macroscópico - fragmento irregular mede 3,0x2,5x1,4 cm. Aos cortes é constituído por tecido firme e acastanhado. Exame microscópico - os cortes histológicos mostram fragmentos de linfonodo com a estrutura em grande parte substituída por proliferação de células histiocitárias e células gigantes epitelióides englobando *P. brasiliensis*. **Diagnóstico:** Paracoccidiodomicose. Tratado pela Infectologia com Sulfametoxazol/trimetoprima 800/160mg 12 em 12 horas por 12 meses. Paciente retornou ao ambulatório de Hematologia após cinco meses de tratamento com hemograma normal, já sem eosinofilia. Atribuímos a eosinofilia ao quadro de paracoccidiodomicose, resolvida com o tratamento da parasitose. Possivelmente ocorre reação dos linfócitos T produzindo IL-5 e GM-CSF, levando à eosinofilia. Consideramos que esta deve ser uma das hipóteses a serem aventadas em casos em investigação por eosinofilia. O paciente apresenta ainda um quadro de beta talassemia minor em seguimento com a Hematologia.

0495

Estudo da dinâmica do comprimento telomérico em amostras do banco de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP

Scatena NF, Rodrigues FG, Paiva RM, Lemos BA, Calado RT

Universidade de São Paulo – USP, SP

Telômeros são repetições *em tandem* da sequência de bases TTAGGG associadas a proteínas denominadas shelterinas. São importantes na estabilidade, replicação e viabilidade de proliferação celular, prevenindo a ativação de respostas que agridam o DNA. O comprimento dos telômeros diminui a cada divisão celular e de acordo com a idade dos indivíduos. A gradual perda destes contribui para os fenômenos de senescência celular, apoptose e transformações neoplásicas. A telomerase é a enzima responsável por manter o comprimento telomérico ao longo do processo replicativo do DNA. Mutações nos genes do complexo da telomerase ou nos que codificam as shelterinas causam a perda excessiva de repetições teloméricas que culminam no desenvolvimento das chamadas “doenças dos telômeros”. Alguns exemplos são: cirrose hepática, fibrose pulmonar idiopática e as síndromes de falência medular. A medida do comprimento telomérico se torna uma ferramenta diferenciada para diagnóstico destas desordens e é também essencial para o entendimento da dinâmica telomérica de indivíduos saudáveis de uma população. O objetivo desse estudo foi avaliar o comprimento dos telômeros ou fragmentos de restrição terminais (TRF) em leucócitos de indivíduos saudáveis a partir de amostras do banco de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto/SP a fim de estabelecer um perfil telomérico desses indivíduos em função da idade. O comprimento telomérico foi determinado pela técnica considerada padrão-ouro, Southern Blotting (SB), a partir de amostras de DNA, extraídas de células nucleadas sanguíneas de 231 indivíduos saudáveis, e digeridas com as enzimas RsaI/HinfI. Após digestão, os TRF's foram separados por eletroforese em gel de agarose 0,8%, transferidos para membrana de nylon e hibridizados com sonda específica conjugada a digoxigenina (*kit Telo TAGGG -Qiagen*). O sinal telomérico foi detectado por quimiluminescência, após exposição da membrana a um aparelho fotodocumentador (*GE Healthcare*). Os valores obtidos foram analisados por *software* específico e a média do TRF foi calculada pela fórmula $\frac{\sum(OD_i)}{\sum(OD_i/L_i)}$, onde OD_i representa o sinal quimiluminescente e L_i a distância do TRF a partir do ponto i . Para se obter uma detecção de boa qualidade, foi necessária a utilização de uma elevada quantidade de DNA (800 ng) de cada amostra, bem como uma maior concentração das enzimas de restrição RsaI e HinfI (1 μ L/0,4 μ g de DNA). O resultado da média de comprimento telomérico de cada indivíduo em função da idade variou entre aproximadamente 11kb ao nascimento (DNA de cordão umbilical) e 5kb aos 63 anos, com perda de ~0,095kb/ano. A perda de repetições teloméricas ocorreu principalmente nas primeiras duas décadas de vida, com sucessivo declínio de forma menos intensa, de acordo com a idade, resultado este que corrobora o trabalho de Calado & Young (2009) e outros dados da literatura. A determinação do perfil de TRF em indivíduos saudáveis é de extrema importância, tendo em vista que se trata de um trabalho pioneiro no Brasil e pode ser utilizado em estudos futuros, funcionando como padrão de normalidade para se estabelecer uma correlação com o comprimento telomérico de pacientes portadores de algum dos distúrbios citados anteriormente.

0496

Avaliação prospectiva de risco de infecção fúngica invasiva em pacientes leucêmicos em quimioterapia-aplicação prospectiva do D - index

Garnica M, Portugal RD, Sinhorelo A, Madeira LB, Maiolino A, Nucci M

Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: Infecção Fúngica Invasiva (IFI) é uma complicação grave que pode ocorrer em pacientes severamente neutropenicos e está associada a alta mortalidade. O escore de risco D-index, que avalia o déficit de neutrófilo (combina intensidade e duração de neutropenia), mostrou-se um bom fator de risco para IFI em leucemia aguda. **Objetivo:** Avaliar a aplicação do D-index prospectivamente na decisão da introdução precoce de terapia antifúngica em pacientes com leucemia aguda. **Métodos:** Estudo prospectivo em único centro com pacientes em indução de remissão de leucemia aguda que consentiram participar. O paciente é classificado diariamente quanto ao risco de IFI utilizando as seguintes variáveis: D-index, Galactomanana sérica, presença de febre e dados de IFI por exame de imagem (Tomografia computadorizada ou ressonância nuclear magnética). Caso o paciente apresente risco aumentado, antifúngico é iniciado e o diagnóstico etiológico buscado. Casos de IFI foram classificados em segundo a Classificação da EORT/MSG. **Resultados:** Vinte e um pacientes já foram incluídos no estudo entre janeiro de 2010 e maio de 2012. A idade mediana do grupo foi de 37 anos (variando de 18 a 77 anos) e 19 pacientes eram homens. Leucemia mieloide aguda foi a doença tratada em 11 casos (52%), seguido de leucemia linfóide aguda (8 casos, 38%), um caso de mielodisplasia e um caso de leucemia de células dendríticas. Sete pacientes estavam em recaída de doença (33%). O tempo mediano de neutropenia foi de 15 dias (variando de 0 a 40 dias). O D-index mediano foi de 4762 (271 – 11980). Ao final do episódio, 8 pacientes tiveram classificação final segundo o D-index de alto risco, 6 de risco intermediário e 7 de baixo risco. Sete pacientes desenvolveram IFI com critérios de definição da EORTC/MSG, sendo 3 provadas, 1 provável e 3 possíveis. As provadas foram 2 casos de Fusariose invasiva e um caso de hialohifomicose. O caso de infecção provável apresentava radiologia compatível com sinusopatia, nódulo pulmonar com halo e galactomanana positiva (Aspergilose provável). A incidência de IFI total e de IFI provada ou provável foi de 33% e 19%, respectivamente. Os casos de IFI se distribuíram entre pacientes estratificados como de alto risco (5 casos de IFI em 8 pacientes – incidência de 62%), e de risco intermediário (2 casos em 6 – incidência de 33%). Nenhum caso de IFI ocorreu em pacientes estratificados como baixo risco. A comparação de incidências entre grupos foi estatisticamente significativa ($p=0,038$). Uso de antifúngico sistêmico ocorreu em 9 pacientes (43%), sete dos com diagnóstico de IFI, e dois com critérios de terapia preemptiva segundo o algoritmo e em risco intermediário, nestes dois últimos não houve confirmação de critérios diagnósticos de IFI ao final do episódio. O uso de caspofungina ocorreu em 4 casos, 2 como estratégia preemptiva (sem IFI confirmada) e em dois casos com IFI (aspergilose provável, e em um caso de fusariose confirmado, havendo necessidade de troca da terapia por outro antifúngico). Houve diferença entre a mediana do D-index (6539 x 2683; $p=0,003$) e do tempo de neutropenia (21 x 9 dias, $p=0,024$) entre pacientes com IFI e sem IFI. Não houve óbito. **Conclusão:** Esta estratégia apresentou-se interessante nesta avaliação preliminar. O recrutamento de pacientes será mantido por mais um ano.

0497

Linfohistiocitose hemofagocítica: relato de casoDemeneck H¹, Grasselli V¹, Sena RH¹, Marcolli AB¹, Camargo LS¹, Bernardi CC², Nabhan SK², Sola CB², Malvezzi M², Azambuja AP²¹ Liga Acadêmica de Hematologia e Oncologia, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR² Serviço de Hematologia, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

Introdução: A Linfohistiocitose hemofagocítica (HLH) é uma doença rara, de comportamento agressivo, descrita pela intensa fagocitose de células hematopoiéticas devido à proliferação benigna de histiócitos. O prognóstico em geral é reservado e grande parcela dos pacientes evolui para óbito mesmo na vigência de tratamento. **Objetivos:** Relatar o caso de paciente adulto com diagnóstico de HLH atendido pelo serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas – UFPR. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 63 anos, com história de perda ponderal de 10 kg em dois meses, acompanhada de febre persistente sem foco infeccioso aparente. À admissão, em novembro de 2011, apresentava rebaixamento do nível de consciência (glasgow 11), febre (T= 38,8°C), icterícia (4+/IV) e hepatoesplenomegalia. Exames laboratoriais evidenciaram sinais de disfunção hepática com aumento de transaminases, além de pancitopenia (Hb = 10,6 g/dL, plaq. = 11 000/mL e leuc. = 610/mL), hipertrigliceridemia (361mg/dL), hipofibrinogenemia (97,9mg/dL) e hiperferritinemia (4. 767 ng/mL). Ao aspirado de medula óssea foram observados vários macrófagos e monócitos apresentando hemofagocitose. Tendo sido verificados critérios suficientes para diagnóstico de linfohistiocitose hemofagocítica, instituiu-se tratamento conforme protocolo HLH-2004. O paciente completou fase de indução do tratamento (8 semanas) com boa resposta clínica e laboratorial e instituiu-se fase de manutenção devido à persistência de hiperferritinemia. Após 15ª semana de quimioterapia, paciente evoluiu com disfunção renal e hipercalcemia, optando-se pela redução da dose do CSA de 400 mg/dia para 350 mg/dia e pelo uso de 75% da dose do etoposide. Na 20ª semana, frente à persistência de IRA e hipercalcemia, suspende-se dexametasona e etoposide e mantém-se CSA 350 mg/dia. Após duas semanas (22/05/12), paciente interna com quadro de neutropenia febril de foco não identificado, tendo sido instituída antibioticoterapia com cefepime, que foi trocado por meropenem, vancomicina e fluconazol devido à persistência de quadro febril. Na ocasião, a biópsia de medula óssea evidenciou recidiva da doença e foi reiniciada quimioterapia em 31/05/12. Três dias depois, paciente apresentou crises convulsivas tônico clônicas generalizadas com TAC de crânio demonstrando hipodensidade talâmica bilateral. Em 05/06/12, evoluiu com rebaixamento do nível de consciência e perda dos reflexos do tronco encefálico com nova TAC craniana evidenciando AVE hemorrágico extenso. Foi iniciado protocolo de morte encefálica (1ª avaliação), que não chegou a ser concluído, uma vez que o paciente evoluiu para óbito em 06/06/12. **Conclusão:** A HLH representa um grande desafio pela sua dificuldade diagnóstica, comportamento agressivo e variabilidade de apresentação clínica. O tratamento da doença é complicado devido ao alto risco de morbidade e à possibilidade de recidiva. Apesar de rara, a doença deve ser levantada como hipótese diagnóstica em pacientes com febre alta, citopenias e esplenomegalia para instituição precoce de tratamento dos casos.

0498

Influência de fatores críticos na medida do comprimento telomérico pela técnica do flow-fish

Rodrigues FG, Scatena NF, Scheucher PS, Calado RT

Universidade de São Paulo – USP, SP

A medida do comprimento telomérico é hoje uma ferramenta diferenciada para diagnóstico das doenças dos telômeros, que são caracterizadas pela perda excessiva de repetições teloméricas TTAGGG. Técnicas que sejam capazes de medir com eficiência e precisão o comprimento do DNA telomérico são cruciais para o entendimento da dinâmica das doenças dos telômeros, bem como para a qualidade dos serviços de diagnóstico destas patologias. A técnica que produz Resultados mais eficientes e confiáveis, além de poder ser utilizada em procedimentos de rotina, é o Flow-FISH. Entretanto, para se obter tais Resultados, todas as etapas envolvidas na técnica devem ser controladas e validadas. O objetivo deste estudo foi explorar as influências das etapas iniciais da técnica na qualidade do material a ser analisado e validar padrões aceitáveis em parâmetros críticos na medida do comprimento telomérico pelo Flow-FISH. Para o estudo, células nucleadas sanguíneas foram isoladas de amostras de sangue periférico, ressuspensas em tampão apropriado e separadas em 2 alíquotas, uma congelada em SBF 90%/DMSO 10% e a outra analisada fresca. As células foram analisadas por citometria de fluxo quanto à viabilidade, à expressão de antígenos de membrana e ao padrão de tamanho (FSC) e complexidade interna (SSC) das subpopulações sanguíneas frente as etapas de isolamento, congelamento e hibridização da amostra. A influência da etapa de hibridização consistiu em aquecer as células à 87°C em solução com formamida 70%. A recuperação celular ao fim do processo de isolamento foi de 60% das células iniciais. A viabilidade das amostras fresca e congelada foi, respectivamente, de 78% e 49%. Com base nos parâmetros FSC e SSC, foi possível distinguir 3 subpopulações sanguíneas no grupo de células viáveis da amostra fresca. Após o congelamento e/ou tratamento para hibridização, o padrão de SSC dos leucócitos foi alterado com distinção de apenas 2 populações no Dot plot: granulócitos/monócitos e linfócitos. A amostra fresca foi marcada com os anticorpos CD4-FITC, CD8-PE, CD3-PercP, CD45RA-FITC, CD14-PE e CD19-APC e as porcentagens das populações positivas foram, respectivamente, de 16%, 11%, 27%, 7%, 2% e 1% da população total. Após o tratamento das células com formamida 70% à 87°C, estas foram caracterizadas pela alta autofluorescência e falta de marcação com os anticorpos utilizados, provavelmente devido à perda dos epítopos de reconhecimento destes na membrana celular. Observou-se que a ressuspensão dos leucócitos após isolamento com tampão em PBS é essencial para garantir a qualidade da amostra e as severas condições necessárias para a etapa de hibridização dificultam a combinação do Flow-FISH com a imunofenotipagem das células. Além disso, devido à perda de células nas etapas iniciais do protocolo, é necessário congelar um número alto de leucócitos (> 8 x 10⁶), que seja suficiente para todas as análises. A validação de todas as etapas foi importante para determinar os padrões de FSC x SSC característicos das populações, evitar a morte de células e a perda das suas características morfológicas. Todas estas condições são essenciais para garantir a qualidade do material, a precisão e a reprodutibilidade dos valores da medida do comprimento telomérico pelo Flow-FISH.

0499

Potential role of hydroxymethylation in the epigenetic reprogramming and transcriptional induction of FoxP3 locus, during *in vitro* generation of human iTregs

Schiavinato JL^{1,2,3}, Haddad R^{1,2,3}, Araujo FS⁴, Scheucher PS¹, Araujo AG¹, Rego EM^{1,2,3}, Covas DT^{1,2,3}, Zago MA^{1,2,3}, Panepucci RA^{1,2,3}

¹ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² National Institute of Science and Technology in Stem Cell and Cell Therapy - INCTC, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

³ Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

⁴ Universidade de Brasília – UnB, Brasília, DF

The CD4⁺CD25^{hi} regulatory T cells (Tregs) play important roles in the maintenance of peripheral immune homeostasis. The development and functionality of Tregs depends on stable *FoxP3* expression. It is believed that this is accomplished by regulatory regions in the promoter and 3 evolutionarily conserved noncoding sequences, termed CNS1, CNS2 and CNS3. In mice and humans, the activation of TCR (with anti-CD2/3/28 beads) in CD4⁺CD25⁻ naïve T cells, in the presence of IL-2, TGF- β and atRA, induces the *Foxp3* expression and the generation of induced regulatory T cells (iTreg). While demethylation of 5mC residues in the CNS2 is consistently associated with stable *FoxP3* expression in natural Tregs of the blood, the epigenetic events involved in the regulation of *FoxP3* in iTregs, remains unexplored. Recently, the oxidation of 5-mC, by the TET family of cytosine oxygenases, with the generation of hidroxy-methylated 5-hmC residues, have been described as an important mechanism of active demethylation, with roles in biological processes, such as regulation of pluripotency and differentiation of hematopoietic stem cells. In order to evaluate the roles of hidroxy-methylation in the transcriptional control of *FoxP3*, we compared the methylation pattern of promoter, CNS2 and CNS3 regions in nTregs, naïve T cells, bead activated naïve T cells (Teff), and iTregs generated from umbilical cord blood (UCB) naïve T cells. For this, CD4⁺CD25⁻CD45RA⁺ naïve T cells were immunomagnetically isolated from UCB and activated with anti-human CD2/CD3/CD28 beads (1:2 beads/cell) in the presence of IL-2 (50 U/ml) with (iTregs) or without (Teff) of TGF- β (5 ng/ml) and atRA (100 nM) for 5 days. Additionally, nTregs (CD4⁺CD25⁻CD127⁻) were immunomagnetically isolated from human PBMCs. Methylation analysis was performed by a protocol that distinguishes methylated 5mC from hidroxy-methylated 5hmC by the enzymatic addition of glucose to the hydroxyl group of 5hmC, followed by the enzymatic digestion with *MspI* or *HpaII*, and PCR amplification using primers specific for evaluated regions. Our results show, for the first time, that, while naïve T cells and Teff presented low level of 5hmC in both segments evaluated of CNS2 (~1%); upon *in vitro* induction, generated iTregs presented 5hmC levels comparable to that of nTregs (5-11% and 5% respectively). Furthermore, CNS3, which was found to be partially demethylated in naïve T cells and nTregs (45 and 50% respectively), presented even higher levels of demethylation upon activation (77% in iTregs and 82% in Teff). Finally, we didn't observe demethylation of promoter of *FoxP3* locus in any of the populations analyzed. In summary, our results indicate that active demethylation of CNS2, occurs in a TGF- β and atRA-dependent manner, during generation of iTregs. Moreover, the partial demethylation of CNS3 observed in naïve T cells and nTregs, and the increased demethylation promoted by activation, is consistent with the role of CNS3 as a pioneer element that initiates *FoxP3* transcription, although in a transient, rather than stable, fashion. Our results contribute to the understanding of epigenetic mechanisms underlying the differentiation of Tregs

and may help in the development of protocols for the generation of functional iTregs for future therapeutic applications. **Support:** FAPESP, CNPq

0500

Short review: drug interactions between herbal medicines and hematological conventional drugs

Fagnani AC, Kagueyama IY, Santana ML, Mendonca M, Habermann CE, Perobelli LL

Hospital de Transplantes Dr. Euryclides de Jesus Zerbini/Hospital Brigadeiro, São Paulo, SP

The use of Herbs is milenar in all the world. Brazil which has the most diverse of native plants, spreading use of these is cultural and popular medicine. While an increasing number of patients are using herbal products and medicines for therapeutic or preventive purposes, we also have significantly use by cancer patients of complementary and alternative medicine (CAM), and an increase risk for drug interactions with unexpected toxicities of chemotherapeutic drugs, occurrence of side effects and decrease in efficacy. Patients have a mistaken idea that all the herbs are safe because they are naturals but Physicians have to considerate the clinical importance of drug-herb interactions: - About 30% of drugs such as Morphine, Digoxine, Vincristine and several chemotherapeutic agents were developed from plants. - Because herbs are sold as food supplements, patients forget to tell that they using. - Herbal Drugs often use the same metabolic systems than others with frequently involvs- Citocromo P450 in liver. This Guide includes drug interactions: between Herbal Medicines and some Hematological Conventional Drugs, the Latin binomial pharmacopoeial name, synonyms, well-established uses, plant part used, indications and vernacular names (popular name) and some at the manufacturing and commerce in our country.

0501

Linfocitose hemofagocítica: complicação rara da leishmaniose visceral no adulto

Canado GG, Faria FH, Macedo AV, Magalhães GH, Silva RO, Santana SA, Araújo CA, Murão M, Glória AB, Nobre VA

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

Introdução: Linfocitose hemofagocítica (LHF) é uma desordem clínica rara, rapidamente progressiva e potencialmente fatal. Ocorre por desordem inflamatória sistêmica, causada pela excessiva ativação e proliferação do sistema fagocítico mononuclear. O diagnóstico é confirmado por estudo molecular ou pela presença de pelo menos cinco de oito critérios (febre, esplenomegalia, citopenias, hipertrigliceridemia e/ou hipofibrinogenemia, sinais de hemofagocitose na medula óssea, baço ou linfonodos, diminuição ou ausência da atividade das células NK, ferritina acima de 500ng/dl; e CD25 solúvel acima de 2400). A LHF pode ser doença autossômica recessiva (primária), desencadeada ou não por infecções; ou secundária a infecções o que pode confundir e atrasar o diagnóstico. Leishmaniose visceral é uma doença crônica sistêmica caracterizada por febre prolongada e hepatoesplenomegalia. Uma variedade de manifestações hematológicas podem estar presentes, porém a pancitopenia é a mais encontrada. A associação entre LHF e Leishmaniose é uma entidade clínica rara, com curso clínico rápido, agressivo e com alta morbimortalidade. **Relato de Caso:** Paciente de 72 anos, sexo masculino, admitido no Hospital das Clínicas da UFMG, com história clínica de três semanas de febre, fadiga, hematoquezia e dispnéia progressiva. História prévia de câncer colorretal tratado há sete anos. Exame clínico mostrava ta-

quidispnéia, febre, palidez cutânea, quadro consumptivo e hepatoesplenomegalia. Exames complementares evidenciaram: Hb: 5,1 g/dl; Global de leucócitos: 2770 /mm³ (89% N/ 10%L/ 1%Eo); Plaquetas: 55.000/mm³; PCR: 262mg/dl. ALT: 114 U/L, AST: 374 U/L, FA: 602 U/L, GGT: 813 U/L, BT: 3,9mg/dl; fibrinogênio: 79 mg/dl; D-dímero: 19.177 ng/ml; triglicérides: 266 mg/dl., ferritina > 1000 ng/ml; LDH: 3514 U/L. Sorologias para Hepatite A, B, C, CMV, HIV e toxoplasmose foram negativas. FAN, anti-DNA e Coombs direto negativos. Tomografia de tórax mostrava derrame pleural e tomografia de abdome hepatoesplenomegalia e linfonodos perihepáticos. Evoluiu com insuficiência renal dialítica. Devido à persistência de febre, fez uso de antibioticoterapia empírica, sem melhora clínica. Considerando a história pregressa de câncer colorretal e a hipótese de linfangite carcinomatosa, foi realizado tratamento com dexametasona, sem resposta. Seguimento propedêutico mostrou hipergamaglobulinemia policlonal na eletroforese sérica e mielograma com medula óssea hiperplásica com representação das três séries próprias, figuras de hemofagocitose e plasmocitose atípica (19,5%). Em primeira avaliação, não foram observadas leishmanias, no entanto, teste rápido e imunofluorescência foram positivos. Iniciado tratamento com Anfotericina B lipossomal, 5 mg/kg/dia durante cinco dias, com evidente melhora clínica e laboratorial. Revisão posterior do mielograma por morfolologista experiente evidenciou leishmanias em sua forma amastigota. **Discussão e Conclusão:** LHF secundária a Leishmaniose Visceral é uma entidade clínica extremamente rara, especialmente em idosos, e potencialmente fatal. O caso clínico apresentado ressalta a importância de se considerar a Leishmaniose no diagnóstico diferencial de LHF, sobretudo em áreas endêmicas como o Brasil. A análise do mielograma pode servir como método diagnóstico, porém está diretamente relacionada à experiência do profissional e ao tempo despendido nesta avaliação.

0502

Perfil do paciente acompanhado no ambulatório de HTLV-I/II no Centro de Hematologia e Hemoterapia DO Ceará – HEMOCE

Silva HF^{1,2}, Barros LM¹, Gomes FV¹, Barbosa JL¹, Ximenes EA¹, Carvalho PG¹, Oliveira DS²

¹ Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE, Fortaleza, CE

² Universidade Estadual do Ceará – UECE, Fortaleza, CE

Introdução: O HTLV-I foi o primeiro retrovírus identificado no humano, o qual pode ser contraído através do leite materno, transfusões sanguíneas, compartilhamento de agulhas e contato sexual. As manifestações clínicas da infecção são tardias, com a maioria dos indivíduos infectados evoluindo assintomáticos, favorecendo, assim, a disseminação do vírus. Este retrovírus está relacionado a várias enfermidades, reconhecidamente, pelo menos, as seguintes: leucemia/linfoma T do adulto (ATL-T), paraparesia espástica tropical (PET-HAM), uveíte e dermatites. O vírus é endêmico no Caribe e na Ásia, onde é responsável pela grande prevalência de leucemias tipo T nessas regiões. O Brasil é provavelmente o país com maior número absoluto por HTLV-I/II no mundo; entretanto, a prevalência varia entre as regiões, sendo maior no Nordeste e menor no Sul. **Métodos:** estudo transversal realizado no Ambulatório de HTLV-I/II do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (Hemoce), sede Fortaleza, que visa avaliar o perfil do portador de HTLV-I/II no estado. **Resultados:** No período de 18 do agosto de 2011 a 31 do julho de 2012 foram cadastrados no ambulatório de HTLV-I/II do Hemoce, 51 casos de indivíduos infectados pelo HTLV-I/II. Todos foram confirmados pelo *Western-Blot*. A maioria dos casos foi encaminhada do próprio hemocentro coordenador de Fortaleza. Do total de pacientes infectados pelo HTLV-I/II, 32 (62,7%) eram mulheres e 19 (37,3%) homens. Do

ponto de vista sorológico, 86,3% dos casos eram HTLV-I; 9,8% HTLV-II e 3,9% indeterminados. Até o presente momento, dos 51 indivíduos acompanhados, dois apresentam PET-HAM, nenhum apresentou ainda ATL-T. Dois tinham diagnóstico prévio de Púrpura Trombocitopênica Imune, dois de Anemia Falciforme e um com Hemoglobinúria Paroxística Noturna. **Conclusão:** A maioria dos pacientes acompanhados no ambulatório são mulheres, o que talvez apenas represente o fato de as mulheres procurarem com mais frequência os serviços de saúde. Chama a atenção a presença de pacientes com doenças hematológicas que necessitam de hemotransfusões constantes figurando na amostra de pacientes, o que condiz com o fato de o HTLV-I/II ser transmitido pelo contato com sangue infectado. Faz-se necessário o incremento de políticas públicas que visem prevenir a disseminação do vírus, tanto pela qualificação do processo de captação e distribuição de hemocomponentes e hemoderivados como pela prevenção da infecção, seja pelo contato sexual, compartilhamento de agulhas infectadas ou pelo leite materno.

0503

Uso da MCP-1ALFA, do STNFR-1 e da proteína C reativa na predição de febre em pacientes hematológicos neutropênicos

Macedo AV, Bittencourt H, Miranda AS, Marriel M, Rocha VC, Cancela CS, Teixeira AL, Nobre V

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

Introdução: Nos últimos anos, diversos mediadores inflamatórios têm sido propostos como ferramentas diagnósticas e prognósticas potencialmente úteis no contexto da neutropenia febril. **Objetivos:** Avaliar o uso da proteína quimiotática de monócitos (MCP-1 α), do receptor solúvel do tipo 1 do TNF (sTNFR-1) e da proteína C reativa (PCR) na predição de febre em pacientes submetidos a QT ou transplante de células-tronco hematopoiéticas, e determinar sua sensibilidade, especificidade, VPP e VPN na predição deste evento. **Métodos:** Estudo prospectivo, de observação, envolvendo pacientes hematológicos ≥ 18 anos neutropênicos internados entre jul/2010 e jul/2011. Procedeu-se à dosagem dos níveis séricos de MCP-1 α , sTNFR-1 e PCR em sangue colhido no dia seguinte à inclusão (“D1”), no dia anterior ao início da febre (“Dpré-febre”), no dia da febre (“Dfebre”), e no dia seguinte à febre inicial (“Dpós-febre”). Para os pacientes afebris durante o seguimento, considerou-se, para as dosagens, a mediana do dia entre a inclusão e o pico febril inicial observado no grupo com febre (“Dmed-febre”), e, a partir deste, o D1, a mediana do dia pré-febre (“Dpré-med”), e a mediana do dia seguinte à febre (“Dpós-med”). Seguimento: 28 dias. **Resultados:** Triaram-se 452 episódios de neutropenia, 81 dos quais (57 pacientes) foram incluídos. Houve predomínio do sexo masculino (55,6%), com mediana de idade de 38,5 anos, e 65,4% tinham leucemia aguda ou linfoma não-Hodgkin. No seguimento, 61 (75,3%) episódios tiveram febre, e 20 (24,7%) mantiveram-se afebris. Comparando-se os marcadores entre os 2 grupos, observaram-se níveis de MCP-1 α mais altos no grupo com febre nos 4 momentos avaliados (p=0,009; p=0,032; p<0,001; e p=0,001, respectivamente, do D1 ao Dpós-febre/Dpós-med). Os níveis de sTNFR-1 e de PCR também se mostraram mais elevados no grupo com febre, comparando-se Dpós-febre vs. Dpós-med e, no caso da PCR, também Dpós-febre vs. Dpós-med. Na análise intragrupo, notou-se elevação progressiva do sTNFR-1 (p=0,011) e da PCR (p<0,001) desde o D1 até o Dpós-febre. Nenhum dos marcadores variou de forma significativa no grupo *sem* febre. Em análise pareada de diferentes combinações de 2 momentos de coleta, apenas no grupo *com* febre, observou-se elevação nos 3 marcadores entre o Dpré-febre e o Dpós-febre (p<0,001 para sTNFR-1, p=0,009

para MCP-1 α , e $p < 0,001$, para PCR). Neste mesmo grupo, a PCR também se elevou entre o Dpré-febre e o Dfebre ($p < 0,001$). Para se correlacionar a variação quantitativa desses marcadores entre 2 momentos de coleta e sua utilidade na predição de febre, diferentes "deltas" foram testados. Observou-se que a variação, entre o D1 e o Dfebre, de 810pg/ml na MCP-1 α e de 22,5mg/L, na PCR, apresentou especificidade de 92% e 93%, e VPP de 95% e 95%, respectivamente, para predição de febre. O VPP chegou a 100% quando esses 2 critérios foram combinados. Quanto ao sTNFR-1, variação de 273pg/ml entre o D1 e o Dpré-febre revelou especificidade de 87% e VPP de 82%. A coleta de amostras dos 3 marcadores antecedeu o início da febre em 9h (mediana: -15h40min a +6h45min). **Conclusão:** A avaliação dos níveis de sTNRF-1, MCP-1 α e de PCR pode ser útil na identificação de pacientes neutropênicos que apresentarão febre, permitindo o início da terapia ATB com ± 9 h de antecedência. Esses Resultados devem ser confirmados em estudos multicêntricos, com maior número de pacientes.

0504

Fungemia por rhodotorula mucilaginosa associada à infecção de catéter venoso central em paciente no pós transplante alogênico de medula óssea: relato de caso

Oliveira EA, Bautzer VR, Santos FP, Santos FN, Macedo EM, Lima MM, Almeida AM, Souza CL, Ribeiro AA, Hamerschlag N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP

Introdução: *Rhodotorula spp.* é um fungo emergente em pacientes imunocomprometidos sendo a espécie *mucilaginosa* a mais descrita. Associa-se com frequência a infecções em cateteres, próteses e enxertos além de peritonite, endocardite e meningite. Pacientes submetidos a transplante de células tronco hematopoiéticas, mesmo em uso de terapia fúngica profilática, são susceptíveis a esta infecção oportunista devido a imunossupressão por períodos prolongados e uso de cateteres centrais. Relatamos o caso de uma paciente que evoluiu com infecção de catéter venoso central por *R. hodotorula mucilaginosa* no pós transplante alogênico de medula óssea complicado com doença do enxerto contra o hospedeiro. **Relato de Caso:** Paciente feminina, 30 anos, submetida a Transplante Alogênico de Medula Óssea Não Aparentado utilizando o protocolo mieloablatoivo BuFlu por Leucemia Mielóide Aguda Recidivada. Como intercorrências pós-transplante apresentou Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Aguda de pele Grau III / IV com necessidade de uso de corticóide em altas doses por tempo prolongado associado a inibidores de calcineurina, micofenolato mofetil, fotoférese e infusão de células mesenquimais. Para profilaxia de doenças fúngicas estava em uso de fluconazol. No D+ 182 dias após o transplante foi internada com quadro de neutropenia febril. Hemocultura coletada do catéter central de longa permanência mostrou crescimento do fungo *Rhodotorula mucilaginosa*. Como conduta foi removido o dispositivo e iniciado Anfotericina B lipossomal 3mg/kg endovenosa por 14 dias. Paciente evoluiu afebril, com melhora clínica. **Discussão:** No caso descrito, a fungemia por *R. mucilaginosa* ocorreu após uso prolongado de terapia imunossupressora e na vigência de profilaxia com fluconazol, condições comuns após transplante complicado com DECH. Existem poucos casos descritos na literatura de infecção por este fungo após o transplante de células tronco hematopoiéticas alogênico (aproximadamente 7 casos), sendo a maioria dos relatos de casos após transplante autólogo. Espécies de *Rhodotorula* devem ser consideradas como possível causa de infecção mesmo em pacientes recebendo antifúngicos profiláticos. **Conclusão:** Deve-se reconhecer esta levedura como possível causa de febre e infecção, especialmente de dispositivos, em paciente imunossuprimidos por longos períodos em uso de profilaxia com azóis, como no caso exposto os transplantados de medula óssea.

0505

Estudo prospectivo de 81 episódios de neutropenia em pacientes com doença hematológica

Macedo AV, Bittencourt H, Marriel M, Rocha VC, Cancela CS, Muzzi GC, Teixeira AL, Nobre V

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

Introdução: Neutropenia representa fenômeno frequente em pacientes hematológicos, o que os torna especialmente vulneráveis a infecções. O sucesso do tratamento oncohematológico depende, em grande parte, da pronta abordagem dessa complicação. **Objetivos:** Descrever e analisar o comportamento clínico, epidemiológico e laboratorial de pacientes neutropênicos submetidos à QT ou transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) em um hospital universitário, comparando-se os grupos com ou sem febre em sua evolução. **Métodos:** Estudo prospectivo, de observação, com seleção de pacientes a partir da triagem de todos os episódios de neutropenia identificados, consecutivamente, por hemogramas seriados no HC-UFMG entre jul/2010 e jul/2011. Critérios de inclusão: ≥ 18 anos, doença hematológica, neutropenia ($N \leq 500$ céls/ μ l ou $500-1.000$ céls/ μ l em queda), e assinatura do TCLE. Febre nas 48h precedentes e uso de terapia antimicrobiana (ATM) durante o episódio em curso, antes ou no momento da inclusão, eram motivos de exclusão. Seguimento: 28 dias, com contato tardio previsto após 90 dias. **Resultados:** Triaram-se 452 episódios de neutropenia, 81 dos quais (57 pacientes) foram incluídos. Houve predomínio do sexo masculino (55,6%), com mediana de idade de 38,5 anos (18-73 anos), e 65,4% tinham leucemia aguda ou linfoma não-Hodgkin. Em 54,3% dos episódios, a doença encontrava-se em atividade. À inclusão (D0), uma minoria (13,6%) foi classificada como ECOG ≥ 2 . A maioria (93,8%) apresentava escore MAASC ≥ 21 . No D0, todos os episódios apresentavam $N \leq 1.000$ céls/ μ l (mediana=420 céls/ μ l), e, no grupo com febre, 29,6% cursavam com $N \leq 100$ céls/ μ l no dia da febre inicial. No seguimento, 61 (75,3%) episódios tiveram febre, com mediana de tempo para sua ocorrência de 4 dias (0-23 dias), e 20 (24,7%) mantiveram-se afebris. Observou-se hemocultura positiva em 37,7% dos episódios do grupo com febre. Em 46,9% destes, um foco clínico foi definido. Todos os pacientes com neutropenia febril (NF) receberam terapia ATM empírica de largo espectro por ocasião da febre. O tempo de uso de ATM variou de 1 a 27 dias (mediana: 10 dias). A mediana para defervescência foi de 3 dias (1-18 dias). Em 31 (38,3%) episódios, 30 dos quais do grupo com febre, os pacientes submeteram-se à TCTH na internação. Comorbidade foi observada em 40,7% dos 81 episódios, sendo HAS e DM os mais prevalentes. No D0, 17 (21%) episódios apresentavam mucosite, 70,6% dos quais haviam sido submetidos à TCTH ($p=0,004$). Em 50,6% dos eventos, houve uso de G-CSF. O óbito em 28 dias nos 57 episódios correspondentes ao número de pacientes incluídos foi de 5 (6,2%) casos (4 do grupo com febre; $p = NS$). Óbito tardio (>90 dias) foi observado em 14 (24,6%) pacientes (8 do grupo sem febre; $p = NS$). As principais causas de óbito foram sepse e recidiva da doença. A mediana de seguimento foi de 16 dias (8,5 dias no grupo sem febre vs. 16 dias no grupo com febre; $p=0,013$) e a de internação hospitalar, de 32 dias ($p=0,073$; 2-93 dias). **Discussão e Conclusão:** O predomínio de episódios de NF de alto risco poderia explicar a elevada ocorrência de febre observada, em conformidade com a literatura. A taxa relativamente baixa de óbito precoce reflete, em grande parte, o início precoce e oportuno da terapia ATM empírica na população estudada. A elevada taxa de óbito tardio, por sua vez, realça a gravidade das doenças de base nessa população.

0506

Modulação da resposta inflamatória e trombótica na tromboflebite por um análogo da heparina obtido do crustáceo *litopenaeus vannamei*

Palhares LC, Cavalcante RD, Brito AS, Silva CM, Bezerra IL, Cruz AK, Oliveira FW, Chavante SF

Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, RN

A trombose venosa superficial, também conhecida como tromboflebite é um distúrbio hemostático que se caracteriza por um quadro de estase e inflamação devido à presença de um trombo em veias superficiais, podendo ainda atingir tecidos adjacentes. Tal condição pode levar a complicações mais graves, tais como a trombose venosa profunda, e por isso a necessidade de novos agentes terapêuticos para o seu tratamento. A heparina, um polissacarídeo sulfatado bastante utilizado na terapia anticoagulante, dispõe de propriedades polianiónicas que a permite interagir com uma diversidade de proteínas. Muitas dessas interações envolvem proteínas crucialmente envolvidas na resposta inflamatória. Compostos análogos da heparina, os glicosaminoglicanos (GAGs), presentes em invertebrados marinhos compartilham de tais propriedades farmacológicas, porém com complicações hemorrágicas atenuadas. Deste modo, o objetivo desse trabalho foi de avaliar o potencial anti-inflamatório e antitrombótico, bem como avaliar o efeito na atividade de metaloproteinases de matriz (MMPs), do heparinoide extraído do cefalotórax do camarão *Litopenaeus vannamei*, a fim de que se possa utilizá-lo como uma nova alternativa na terapia da tromboflebite com reduzidas complicações hemostáticas. Para tanto, os GAGs foram extraídos mediante proteólise, fracionamento com acetona e purificados por cromatografias. A ação do heparinoide sobre a inflamação e a atividade de MMPs, foi avaliado através do modelo de peritonite aguda induzida por tioglicolato de sódio em ratos *Wistar*. Para avaliação do seu risco hemorrágico foi utilizado o método de escarificação em cauda de rato. A análise do efeito antitrombótico foi realizada *in vivo* pelo modelo de ligadura de veia cava em ratos. No modelo de inflamação, os animais tratados com o heparinoide apresentaram uma redução significativa do recrutamento de leucócitos ao sítio de injúria, bem como uma efetiva inibição da atividade da MMP-9 e proMMP-2. Na modulação da hemostasia, o heparinoide foi capaz de reduzir o volume do trombo, além de exibir um efeito hemorrágico três vezes menor do que a heparina. A eficácia na inibição da resposta inflamatória e na redução da atividade gelatinolítica de MMPs, bem como o potente efeito antitrombótico apresentado pelo heparinoide, fazem deste um interessante alvo terapêutico para o tratamento auxiliar da tromboflebite, no entanto, com riscos hemorrágicos diminuídos.

0507

Estudo comparativo entre dois protocolos de pulsoterapia com corticóide em pacientes com diagnóstico de púrpura trombocitopênica idiopáticas admitidas no setor de emergência do hemório

Campos JS, Lobo CL, Queiroz AM, Soares NB, Lima ALL, Aguiar TF

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti - HEMORIO, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A púrpura trombocitopênica idiopática (PTI) é uma doença com resposta imunitária efetuada contra alvos existentes no próprio indivíduo, reagindo no organismo cronicamente. Clinicamente ela é conhecida pela diminuição de plaquetas. A destruição das plaquetas é provocada por anticorpos antiplaquetários, imunológicos ou não imunológicos, pode-se demonstrar a presen-

ça de anticorpos reativos contra os glicoproteínas da membrana plasmática. Na maioria dos casos os anticorpos pertence à classe IgG (Imunoglobina G), os sintomas iniciais da púrpura são pequenas manchas avermelhadas sobre a pele devido rompimentos de capilares, que com o passar do tempo apresenta-se em forma de hematomas. **Objetivo:** Comparar dois protocolos diferentes para o tratamento da Púrpura trombocitopênica idiopática em pacientes atendidos entre janeiro e julho de 2012 no setor de emergência do Hemório. **Métodos:** Foram analisados os prontuários de 22 pacientes com diagnóstico de púrpura trombocitopênica idiopática no setor de emergência que possuíam indicação de pulsoterapia para tratamento de plaquetopenia severa. Foram incluídos pacientes acima de 15 anos e os que não possuíam sangramento em órgão alvo. Todos possuíam plaquetopenia severa com valores abaixo de 5 mil. Os protocolos administrados em cada paciente de forma aleatória foram a pulsoterapia com metilprednisolona 30mg/Kg/dia por 3 dias com descalonamento gradual de 50 % da dose/dia nos dias consecutivos até a dose do equivalente a 1-2 mg/kg/dia de prednisona ou pulsoterapia com dexametasona 40mg/dia por 4 dias com substituição por prednisona 1-2 mg/kg/dia no quinto dia do tratamento. Foi avaliado a mediana do tempo de resposta, considerando valores de plaquetas acima 2 vezes o valor de admissão ou pelo menos 30 mil, e a mediana do tempo de internação. **Resultados:** Analisamos 10 pacientes que foram submetidos a pulsoterapia com metilprednisolona e 12 pacientes submetidos a pulsoterapia com dexametasona. Observamos que a mediana do tempo de resposta entre os dois protocolos não demonstrou relevância estatística significativa com o tempo de 3 e 3,5 dias respectivamente. Contudo, a mediana do tempo de permanência demonstrou relevância estatística significativa sendo a pulsoterapia com metilprednisolona de 6 dias e a pulsoterapia com dexametasona de 3 dias de internação hospitalar. **Conclusão:** Quando comparado o resultado do protocolo da pulsoterapia com dexametasona ao da pulsoterapia com metilprednisolona no tratamento da púrpura trombocitopênica imunológica evidencia-se a diminuição significativa no tempo de permanência no setor de emergência.

0508

Importância da citometria de fluxo no diagnóstico de síndrome linfoproliferativa autoimune

Azambuja AP, Beltrame MP, Weiss S, Suzuki J, Malvezzi M, Pasquini R

Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR

Introdução: O diagnóstico diferencial de linfadenopatia em crianças e adultos jovens sem causas infecciosas ou malignas subjacentes inclui a síndrome linfoproliferativa autoimune (inglês - ALPS). A ALPS é uma entidade causada por mutações no gene FAS que podem ser herdadas de maneira autossômica dominante. Estas mutações levam a falha da apoptose dos linfócitos T, e resultam em acúmulo destes, linfadenopatia crônica, esplenomegalia, citopenias resultantes de sequestro e destruição autoimune, além de um risco aumentado de linfomas B. Os achados laboratoriais incluem hipergamaglobulinemia policlonal e expansão de linfócitos T TCRαβ duplo negativos, ou seja, que não expressam CD4 nem CD8 [TCRαβ+CD4(-) CD8(-)]. Em 1999 o NIH sugeriu critérios para o diagnóstico, os quais foram revistos em 2009 (OLIVEIRA, J. *et al*). Segundo o consenso, para o diagnóstico da síndrome são necessários 2 critérios:

- 1) Linfadenopatia crônica (>6m) não infecciosa não maligna, e/ou esplenomegalia;
 - 2) Aumento dos linfócitos T duplo negativos TCRαβ+CD4(-) CD8(-), sendo o valor de referência dentro da janela de linfócitos totais 1,5%, ou maior que 2,5% dos linfócitos T CD3+.
- Para confirmação diagnóstica são necessários um critério acessório primário (1-2) ou dois secundários (3-6):

- 1) Defeito na apoptose em dois ensaios separados;
- 2) Mutaç

ma ABVD, tendo apresentado, após o término do primeiro ciclo, quadro de prurido generalizado que evoluiu com liquenificações e máculas hipercrômicas com disposição linear em áreas previamente atritadas pelo ato de coçar. A biópsia de pele foi sugestiva de dermatite intercariforme, compatível com reação medicamentosa. Em avaliação conjunta com a dermatologia constatou-se um quadro raro de dermatite flagelada induzida pela Bleomicina. As funções hepática e renal da paciente estavam normais ao diagnóstico, tendo permanecido inalteradas durante o tratamento. **Discussão:** As lesões de pele apresentadas pela paciente sugerem fortemente o diagnóstico de dermatite flagelada induzida pelo uso de bleomicina, esta condição pode ocorrer com administração de doses variadas da droga, tendo sido relatados casos após uso de 15mg a 285mg. As lesões podem surgir desde poucas horas até nove semanas após a exposição à droga, conforme casos relatados na literatura. Os mecanismos patogênicos deste tipo de lesão são controversos, no entanto, acredita-se que pequenos traumas ou a pressão provocada pelo ato de coçar possam causar vasodilatação, com acúmulo local da droga. Várias terapias tópicas e sistêmicas têm sido tentadas, porém, na maioria dos casos, o tratamento da dermatite flagelada resume-se ao controle dos sintomas a fim de minimizar os traumas cutâneos. As lesões tipicamente resolvem-se cerca de seis meses após a suspensão da bleomicina. A dermatite flagelada não é tipicamente associada a nenhuma outra droga utilizada pela paciente.

0511

Linfoma de Hodgkin: perfil imunofenotípico de uma população em um centro de alta complexidade no Estado do Ceará, Brasil

Albuquerque CA^{1,2}, Oliveira DS³, Lisboa RP³, Vasconcelos SP³, Sousa TB³, Costa PF^{1,2,3}, Silva SL^{1,2}

¹ Universidade de Fortaleza - UNIFOR, Fortaleza, CE

² Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, Fortaleza, CE

³ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

O uso da Imunofenotipagem como ferramenta na classificação dos Linfomas de Hodgkin auxilia na distinção entre as afecções linfoproliferativas. Esses tumores expressam em sua superfície anticorpos monoclonais como CD15, CD30, CD20, CD45, CD3, EBV-LMP, EMA, entre outros, que permitem a diferenciação das classes histológicas, possibilitando o direcionamento do tratamento. Objetivando compreender o perfil de incidência dos principais marcadores tumorais utilizados no rastreio do Linfoma de Hodgkin, na população cearense, visa-se uma melhor utilização e manejo dessa ferramenta no tratamento dessa afecção. Foi realizado um estudo retrospectivo, descritivo e quantitativo realizado em um Centro de Alta Complexidade em Oncologia, o Centro Regional Integrado de Oncologia – CRIIO, no período de junho e julho de 2011. Foram levantados os dados de pacientes com Linfoma de Hodgkin com entrada no CRIIO durante os anos de 2000 a 2011, que receberam tratamento Quimioterápico e/ou Radioterápico, sendo excluídos pacientes descritos como portadores de Linfoma de Hodgkin sem anexo em prontuário o laudo histopatológico, totalizando 40 pacientes. Das 40 imunofenotipagens analisadas, demonstraram positividade de 95% para CD30 (n=38), 72,5% para CD15 (n=29) e 57,5% PARA CD20 (n=23). Dentre os 26 pacientes que realizaram pesquisa do marcador CD45, 8 foram positivos (30,8%). Dentre os 33 pacientes que realizaram pesquisa do marcador CD3, 10 foram positivos (30,3%). Dentre os 13 pacientes que realizaram pesquisa do marcador EBV-LMP, 6 foram positivos (46,2%). Dentre os 22 pacientes que realizaram pesquisa do EMA, 12 foram positivos (54,5%). Sabe-se que o conhecimento acerca do imunofenótipo das células tumorais é muito importante pois permite a diferenciação entre os diversos tipos histológicos, e, consequentemente, o direcionamento e a resposta

ao tratamento. Conclui-se, portanto, que o presente estudo é importante para conhecermos o perfil da população brasileira e que assim possamos desenvolver estratégias de tratamento mais eficazes e específicas para cada perfil imunofenotípico.

0512

Linfoma de hodgkin: prevalência dos tipos histológicos em uma população do centro de alta complexidade em oncologia no Estado do Ceará, Brasil

Albuquerque CA^{1,2}, Oliveira DS³, Lisboa RP³, Vasconcelos SP³, Sousa TB³, Costa PF^{1,3,4}, Silva SL^{1,2}

¹ Universidade de Fortaleza - UNIFOR, Fortaleza, CE

² Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, Fortaleza, CE

³ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

⁴ Centro Regional Integrado de Oncologia – CRIIO, Fortaleza, CE

Linfoma de Hodgkin: Prevalência dos tipos histológicos em uma população do Centro de Alta Complexidade em Oncologia no estado do Ceará, Brasil. O Linfoma de Hodgkin é classificado pela Organização Mundial de Saúde em duas grandes classes: Hodgkin Clássico, o qual é subdividido em Esclerose Nodular, Celularidade Mista, Rico em Linfócitos e Depleção Linfocitária; Linfoma de Hodgkin Nodular com Predominância Linfocitária. Visando compreender a incidência dos tipos histológicos do Linfoma de Hodgkin em uma população do Ceará, Brasil e otimizar o manejo do tratamento dos pacientes portadores dessa afecção foi realizado um estudo retrospectivo, descritivo e quantitativo realizado em um Centro de Alta Complexidade em Oncologia, o Centro Regional Integrado de Oncologia – CRIIO, no período de junho e julho de 2011. Foram levantados os dados de pacientes com Linfoma de Hodgkin com entrada no CRIIO durante os anos de 2000 a 2011, que receberam tratamento Quimioterápico e/ou Radioterápico. Foram excluídos pacientes descritos como portadores de Linfoma de Hodgkin sem laudo histopatológico anexado ao prontuário. A distribuição conforme classificação histológica foi de 36 pacientes do tipo ESCLEROSE NODULAR (51,5%); 16 do tipo CELULARIDADE MISTA (23,5%); 1 do tipo DEPLEÇÃO LINFOCITÁRIA (1,5%); 6 do tipo RICO EM LINFÓCITOS (8,8%); 6 do tipo LINFOCITÁRIO NODULAR (8,8%); 3 apresentavam padrão CLASSICO (4,4%) não determinado qual subtipo e 4 encontrava-se classificados como Linfoma de Hodgkin sem classificação adicional, totalizando 72 pacientes. A maioria dos estudos realizados sugere a predominância do tipo histológico ESCLEROSE NODULAR (65%), seguido por CELULARIDADE MISTA (12%), dados condizentes com os Resultados encontrados no presente estudo. Conclui-se, portanto que o perfil epidemiológico encontrado na população cearense condizem com o perfil epidemiológico observado mundialmente.

0513

Avaliação clínico-epidemiológica dos pacientes com linfoma de Hodgkin na unidade de oncologia de Roraima

Siqueira RS¹, Martin CN², Fonseca AJ², Morais IS¹, Silva HB¹, Murari RS¹, Carvalho RV¹

¹ Universidade Federal De Roraima – UFRR, Boa Vista, RR

² Unidade De Oncologia De Roraima – UNACON, Boa Vista, RR

Introdução: O linfoma de Hodgkin (LH) é o sexto tipo de linfoma mais comum e as estimativas em várias regiões do mundo variam de 0,2 a 4,9 casos por 100.000 habitantes. A grande maioria dos dados epidemiológicos e de Resultados de tratamento são oriundos dos estudos cooperativos entre Estados Unidos, Canadá e Europa.

No Brasil são escassas as informações sobre dados demográficos, incidência e prevalência nas diferentes regiões do país. Roraima é um estado isolado geograficamente, com recursos financeiros escassos e uma população heterogênea (imigrantes venezuelanos, guianenses, nordestinos, além de importante quantitativo indígena). Somente após a criação do primeiro serviço de oncologia no estado, em 2008, foi possível tratar esses pacientes na sua localidade de origem. **Objetivo:** Descrever o perfil clínico-epidemiológico e estimar a incidência dos casos de LH diagnosticados no Serviço de Oncologia de Roraima. **Métodos:** Estudo retrospectivo, observacional, descritivo e transversal com coleta das informações de todos os prontuários de pacientes com diagnóstico de LH no período entre 01 de julho de 2008 e 30 de junho de 2011. **Resultados:** O levantamento mostrou 11 casos com diagnóstico de LH, correspondendo a 15% das neoplasias hematológicas. A incidência para o estado foi de 0.91 casos por 100.000 habitantes/ano. A média de idade foi de 38,5 anos (max 82 e mín 15). Dez (91%) pacientes eram do sexo masculino e 7 (64%) consideravam-se brancos. Ao diagnóstico 8 (73%) encontravam-se em estágio I ou II de Ann Arbor e 4 (36%) apresentaram mais de 3 fatores prognósticos desfavoráveis. Todos receberam tratamento quimioterápico de primeira linha e seguem acompanhamento do serviço. **Conclusões:** No Brasil a incidência de LH é desconhecida, uma vez que os estudos costumam ser casuísticas isoladas. Os Resultados obtidos representam o total de pacientes diagnosticados com essa neoplasia, em maiores de 12 anos, em Roraima no período analisado. Desse modo, é possível estimar a incidência dessa neoplasia no estado e constata-se que apesar do isolamento geográfico e da limitação de recursos materiais e humanos, a maioria dos pacientes recebeu diagnóstico em estágios precoces e obteve acesso a terapias consideradas de primeira linha por protocolos nacionais e estrangeiros. O pequeno número da amostra não permite avaliações estatísticas e um tempo maior de acompanhamento é necessário para avaliar curva de sobrevivência e recaídas.

0514

Síndrome hemofagocítica como apresentação inicial de linfoma de Hodgkin: um relato de caso

Yamakawa PE, Colombo ES, Marconi TD, Mendes MS, Braion VH, Taniguchi L, Suganuma LM, Fonseca GH

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: A Síndrome Hemofagocítica pode estar presente no contexto de manifestações paraneoplásicas. Alguns linfomas podem estar associados a essa síndrome, como os linfomas de células T e de células NK. A associação com Linfoma de Hodgkin é incomum, porém está descrita na literatura médica. **Objetivo:** Relatar caso de Síndrome Hemofagocítica como apresentação inicial de Linfoma de Hodgkin. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 57 anos, previamente hígido, em investigação de Síndrome Consumptiva. Relatava perda de 10 Kg no período de 3 meses, associada a episódios esporádicos de febre vespertina e sudorese. Ao exame físico, apresentava esplenomegalia com baço palpável a 3 cm de rebordo costal esquerdo, ausência de adenomegalias palpáveis e monilíase oral. Hemograma inicial mostrava pancitopenia, com Hb 5, VCM 83, 160 leucócitos e 52 mil plaquetas. Demais exames laboratoriais mostraram hiperferritinemia e hipertrigliceridemia. Tomografias revelaram apenas linfonomegalia cervical. O mielograma mostrou-se hipocelular, com aplasia da série granulocítica e numerosas figuras de hemofagocitose. Foi iniciada corticoterapia, contudo, sem melhora. Paciente evoluiu com piora do quadro clínico, sendo introduzido tratamento com imunoglobulina. Nos dias seguintes o paciente evoluiu com quadro de neutropenia febril, culminando em choque séptico refratário e óbito. A biópsia de medula óssea realizou o diagnóstico retrospectivo de Linfoma de Hodgkin. **Discussão:** A Síndrome Hemofagocítica

caracteriza-se por uma ativação sistêmica de macrófagos com intensa fagocitose de células hematopoiéticas. Suas manifestações incluem febre, hepatoesplenomegalia, citopenias, hiperferritinemia, triglicérides elevados e disfunção hepática, tendo curso clínico rapidamente progressivo e frequentemente com evolução a óbito. Pode estar relacionada a diversas causas, com destaque para infecções virais, como Epstein-Barr vírus, e neoplasias. Ainda existem formas familiares da síndrome. **Conclusão:** Relatamos este caso infrequente de Síndrome Hemofagocítica associada a Linfoma de Hodgkin. Ainda que pouco comum, esta associação deve ser aventada no manejo dos pacientes portadores deste tipo de linfoma. Ressaltamos a importância da investigação da doença de base subjacente, cujo diagnóstico precoce e tratamento específico com agentes citotóxicos e imunomoduladores pode reverter o quadro clínico grave e potencialmente fatal da síndrome.

0515

Impact of treatment on CD4+CTLA-4+ T cell subset in Brazilian patients with classical Hodgkin lymphoma

Silva JM1, Sales MM2, Penna AD1, Chaves EM3, Silva PB1, Assis MG1, Baiocchi OC1

¹ Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

² LIM⁰³, Laboratório de Citometria de Fluxo, Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo – USP, SP

³ Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP

Introduction: Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (*CTLA-4*) is one of the basic antigens involved in immune responses regulation associated with autoimmune diseases and cancer. Its key role in regulating the immune system has made *CTLA-4* an attractive target for cancer. Augmentation of the immune response via blockade of *CTLA-4* has shown an improvement in survival for patients with metastatic melanoma, which prompted the Food and Drug Administration (FDA) approval of the *CTLA-4* function blocking Ipilimumab for this disease. **Objective:** The aim of the study was to evaluate the surface expression of *CTLA-4* on CD4⁺ T cells in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of patients with classical Hodgkin lymphoma (cHL) at diagnosis and post-treatment and correlate these findings with clinical and epidemiological aspects. **Methods:** This is an open study and, so far, we included 35 patients. Blood was drawn at diagnosis and post-treatment (1 to 4 months after completion of therapy). The T cell phenotype was evaluated flow cytometry using CD3, CD4, CD8, *CTLA-4* and correlated to phenotypic and clinical parameters in uni- and multivariate models pre and post-treatment. Eighteen healthy blood donors volunteers were recruited as controls. In this study, only cHL patients whose histology could be confirmed and Epstein-Barr (EBV) association established were studied. All patients were HIV negative and received ABVD chemotherapy protocol and radiotherapy if necessary. Three patients relapsed, and blood was also drawn at this time. **Results:** From the 35 cHL patients, 17 were EBV related and 18 EBV non-related. The percentage of CD4⁺ T cells with *CTLA-4* surface expression was significantly increased in patients with cHL at diagnosis compared with healthy controls (median 7.3 vs 2.73; P<0.001). Additionally, CD4⁺*CTLA-4*⁺ T lymphocytes significantly decreased following treatment and complete response (7.36 vs 5.53; p=0.008), with values almost similar to healthy controls (5.53 vs 2.73; p=0.07). Interestingly, CD4⁺*CTLA-4*⁺ T lymphocytes on relapse were significantly different from post-treatment values and similar to pre treatment. There was no difference on CD4⁺*CTLA-4*⁺ T lymphocytes in the EBV related and non-related cHL patients. Regarding patient's baseline characteristics, CD4⁺*CTLA-4*⁺ T lymphocytes strongly correlated with erythrocyte sedimentation rate (ESR) values (r = 0.67; p=0.002). **Conclusions:** We showed that CD4⁺*CTLA-4*⁺ T lymphocytes are increased in Brazilian cHL patients at diagnosis compared with post-treatment values and healthy controls. These

results suggest a role of *CTLA-4* on Hodgkin lymphomagenesis, possibly negatively regulating host anti-tumor immune response. The promising immunotherapy regimen targeting *CTLA-4* might be beneficial in classical Hodgkin lymphoma.

0516

Quantification of regulatory/effector CD4⁺ T lymphocytes pre and post-treatment in patients with classical Hodgkin lymphoma in Brazil

Silva JM¹, Penna AM¹, Sales MM², Chaves EM³, Silva PB¹, Assis MG¹, Baiocchi OC¹

¹ Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

² LIM⁰³, Laboratório de Citometria de Fluxo, Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo – USP, SP

³ Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP

Introduction: Epstein-Barr virus (EBV) can be found latently infecting Reed-Sternberg (RS) malignant cells in approximately 50% of classical Hodgkin lymphoma (cHL) patients in Brazil. EBV signaling leads to a disbalance between effector and regulatory CD4⁺ T lymphocytes in the tumor microenvironment, promoting the immune evasion of RS malignant cells. However, little is known about these lymphocytes subpopulations in the peripheral blood of patients with cHL and how treatment can modify this regulatory/effector ratio. In this study, we analyzed the regulatory and effector CD4⁺ subpopulations in peripheral blood in patients with cHL and the impact of treatment. **Methods:** This is an open multicentric study. We included 35 patients from December 2009 to December 2011. Blood was drawn at diagnosis and after completion of treatment (1 to 4 months). Eighteen healthy blood donors volunteers were recruited as controls. Quantification of regulatory and effector T lymphocytes was done by flow cytometry using CD3, CD8, CD4, CD25, *Foxp3*, G_{ITR}, CD127 and interleukin-17 (IL17) antibodies and correlated to phenotypic and clinical parameters in uni- and multivariate models pre and post-treatment. In this study, only cHL patients whose histology could be confirmed and EBV association established were studied. All patients were HIV negative and received ABVD chemotherapy protocol and radiotherapy if necessary. **Results:** From the 35 cHL patients, 17 were EBV related and 18 EBV non-related. The percentage of CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ and CD4⁺G_{ITR}⁺ at diagnosis was significantly different from healthy controls (median 1.04 vs 0.26, p=0.02; 4.2 vs 2.2, p=0.003; respectively). CD4⁺CD127⁺ T lymphocytes were not different from controls (p=0.3). Additionally, CD4⁺ T lymphocytes with effector phenotype (CD4⁺IL17⁺) were significantly increased in cHL patients compared with controls (0.42 vs 0.13, p<0.001). When we compared pre and post-treatment values of regulatory and effector CD4⁺ T lymphocytes, we did not find statistical difference. Interestingly, post-treatment values were not statistically different from healthy controls. There was no difference on regulatory and effector CD4⁺ T lymphocytes in the EBV related and non-related cHL patients. Regarding patient's baseline characteristics, patients with advanced disease and B symptoms presented with increased CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ and CD4⁺G_{ITR}⁺ T lymphocytes (p=0.03 and p=0.01, respectively). **Conclusions:** Our results demonstrate that patients with cHL presented with increased CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺, CD4⁺G_{ITR}⁺ and CD4⁺IL17⁺ at diagnosis compared with healthy controls. Also, treatment had no impact on these CD4⁺ T lymphocytes populations. Probably, the moment blood was drawn after completion of therapy could have influenced our results as we know that immunological reconstitution in patients with cHL may take several months. Further studies investigating these CD4⁺ T lymphocytes subpopulations in cHL patients will contribute not only to our understanding on the pathogenesis of cHL but also to the development of therapeutic strategies designed to manipulate regulatory activity. Given that the incidence of EBV-related

cHL, disease presentation and severity are different in developing countries than in developed ones, we emphasize the importance of this ongoing Brazilian multicentric project.

0517

Expressão de marcadores de ativação e diferenciação de macrófagos no linfoma de Hodgkin clássico como marcadores prognóstico: a propósito das condições técnicas de aplicação

Vera-Lozada MG¹, Barros MH^{1,2}, Stefanoff CG³, Hassan R¹

¹ Laboratório de Oncovirologia – CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Institute for Pathology, Unfallkrankenhaus Berlin, Berlin, Germany

³ Serviço de Pesquisa Clínica – CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: O papel dos macrófagos no prognóstico do linfoma de Hodgkin clássico (LHc) é ainda controverso. Parte da controvérsia é centrada na falta de uniformização técnica devido ao uso de vários marcadores de imunohistoquímica ou PCR em tempo real (qPCR) e na falta de identificação das populações celulares especificamente associadas ao prognóstico. Um sistema de estratificação de risco baseado na expressão gênica, incluindo marcadores de macrófagos, a partir de RNA extraído parafina (FIP) foi publicado, cujos Resultados ainda não foram validados em um estudo independente. O objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicabilidade da quantificação da expressão gênica de STAT1 (macrófagos M1) e LYZ (monócitos) a partir de linfonodos FIP, como possível marcador prognóstico no LHc. **Métodos:** A expressão gênica de STAT1 e LYZ normalizada para a expressão de GUSB foi avaliada em um grupo de 90 crianças com LHc, em relação ao *status* do vírus Epstein-Barr (EBV), o número de macrófagos CD68⁺ (clone PGM1, Dako) e CD163⁺ (clone 10D6, Novocastra), e às sobrevidas livre de progressão (SLP) e global (SG). Para aferir a variabilidade técnica dos ensaios de qPCR foi realizado um ensaio NESTED (3x2x2x2x2), comparando 3 casos de LHc com 2 linfonodos cada um, reações duplas de extração de RNA, retrotranscrição, pre-amplificação (pré-Amp) e qPCR. As reações foram realizadas em um aparelho AB7000, utilizando sistemas *TaqMan*. O modelo linear d os efeitos de variabilidade biológica e de processamento foi calculado como: $Cq_{ijklmn} = m + ai + bj(i) + ck(ji) + dl(kji) + em(lkji) + fn(mlkji)$. A análise foi realizada por ANOVA-nested de 6 fatores com efeito randômico. A partição da variância foi: $100 \times s^2 / s^2 Cq$, sendo $x = i, j, k, l, m, n$. 2) As análises foram realizadas com os programas SPC, GENEX (MultiD) e SPSS. **Resultados:** A expressão gênica de STAT1 e LYZ esteve correlacionada entre si (p=0,000); assim como com o número de células CD163 (p=0,009 e p=0,02 respectivamente, Correlação de Spearman) e CD68 (p=0,008 e p=0,000, respectivamente). Alta expressão de LYZ foi associada à presença do EBV (p=0,009). Os níveis de expressão de STAT1 e LYZ não foram associados com a SG nem com a SLP. O experimento NESTED mostrou que os ensaios foram reprodutíveis, com variação inter-ensaio baixa. Entretanto, nas análises dos valores DCq, STAT1 apresentou uma variabilidade técnica de até 80%, indicando que os Resultados da qPCR não podem ser usados para estratificação de pacientes. **Conclusões:** Este estudo indica (1) A expressão de STAT1 e LYZ reflete o componente de monócitos/macrófagos no microambiente do LHc e são moduladas pelo EBV como descrito para macrófagos; (2) A expressão de STAT1 e LYZ não estiveram relacionadas com o prognóstico, provavelmente devido ao alto impacto da variabilidade técnica; (3) O poder de discriminação de um biomarcador baseado em qPCR para estratificação de risco depende da variabilidade biológica e da contribuição do processamento da amostra, não podendo passar para a clínica antes desta avaliação. Financiamento: INCT (CNPq, FAPERJ), Pensa-Rio/FAPERJ

0518

Linfoma Hodgkin versus doença de Rosai Dorfman em paciente com lúpus eritematoso sistêmico: relato de caso

Feitosa CC, Silva JB, Teixeira MA

Pontifícia Universidade Católica de Campinas – PUC-Campinas, Campinas, SP – PUC-Campinas, Campinas, SP

Introdução: O desenvolvimento de neoplasias em paciente com diagnóstico prévio de patologias hematológicas tem sido estudado há décadas. Muitos trabalhos também tem sugerido que portadores de doenças reumatológicas, entre elas o lúpus eritematoso sistêmico (LES), tem risco aumentado para evoluir com doenças linfoproliferativas clonais, principalmente as relacionadas aos linfócitos B, e doenças benignas, por exemplo, a Doença de Rosai Dorfman. Pesquisas em multicentros internacionais mapearam um perfil bimodal para o desenvolvimento de linfoma Hodgkin em pacientes previamente diagnosticados como lúpicos, no qual há duas faixas etárias, entre 15 e 35 anos e mais de 50 anos. Nesta amostra também foi evidente o predomínio no sexo masculino. No entanto, a presença de LES e o seu tratamento, em alguns casos, podem interferir na manifestação de sinais e sintomas de outras patologias, agindo como fator confundidor na elaboração das hipóteses diagnósticas.

Relato de Caso: paciente sexo masculino de 30 anos, branco, motoboy, em acompanhamento por Síndrome de Evans secundária a LES por 4 anos em outro serviço. Inicialmente foi tratado com corticoterapia e cloroquina, porém não houve remissão dos quadros hemorrágico e de hemólise, sendo então proposto esplenectomia. O anátomo-patológico revelou histiocitose sinusal (CD34 positivo em endotélio vascular, CD38 + em numerosos macrófagos, CD31 positivo em vasos, S-100, em esparsos macrófagos, HMB45 negativo, Ki 67 positivo em esparsos centros germinativos). Permaneceu sem seguimento clínico por 2 anos e procurou o Hospital da PUC-Campinas referindo linfonodomegalia generalizada e dolorosa, acompanhada de febre intermitente e tosse seca. Tais sintomas apresentavam remissão parcial com uso de prednisona e codeína. Dentre as sorologias virais pesquisadas, encontramos IgM positiva para Epstein-Barr (EBV). Durante a internação foi realizado biópsia excisional de linfonodo cervical à esquerda, cujo anátomo-patológico e imunohistoquímica foram inconclusivas, sendo as principais hipóteses diagnósticas linfoma Hodgkin e doença de Rosai Dorfman. **Discussão:** O caso por nós relatado teve apresentação clínica inicial de LES. Ao evoluir com linfonodomegalia generalizada, foi realizada extensa investigação quanto a sua etiologia, procurando correlacionar o quadro clínico atual com sua história progressa. O aumento dos linfonodos nos levou a cogitar a Doença de Rosai Dorfman e o linfoma Hodgkin, sendo que, segundo a literatura, a associação desta última patologia com LES é muito mais frequente que a Doença de Rosai-Dorfman. Porém, de acordo com outros autores, a infecção por EBV em casos como este tem relação maior com a Doença de Rosai-Dorfman. **Conclusão:** Os laudos de biópsia e imunohistoquímica ainda são fundamentais para estabelecer o diagnóstico de doenças linfoproliferativas. Quando diante de casos em que há histórico de doenças auto-imune tais exames são cruciais porque patologias benignas mimetizam linfomas, o que pode atrasar a confirmação de diagnóstico preciso.

0519

Linfoma de Hodgkin primário epidural: relato de caso e revisão da literatura

Xavier EM, Sarkis YA, Rocha VG, Serpa MG, Silva CA, Xavier TC, Vilela VL

Hospital Sírio-Libanês – HSL, São Paulo, SP

PPB, 57 anos, previamente hipertenso, apresentou dorsalgia segmentar acometendo toda extensão do dermatomo de região correspondente a D04 desde novembro de 2011 evoluindo com piora progressiva da dor e aparecimento de parestesia em mesmo local. Foi submetido à ressonância nuclear magnética (RNM) de coluna torácica sendo encontrado lesão expansiva epidural de D3 a D5 medindo cerca de 5,7x3,4x1,1 cm deslocando anteriormente a dura-mater e a medula dorsal correspondente, reduzindo a amplitude do canal vertebral ósseo neste nível e obliterando os forames de conjugação neurais respectivos. Diante desse fato foi submetido à cintilografia óssea sendo detectado apenas a lesão inicialmente vista pela RNM, sem outras alterações. Realizado ressecção da massa epidural que foi compatível com Linfoma de Hodgkin (LH) clássico subtipo esclerose nodular (revisado por duas equipes de hematopatologistas). PET-CT pré-início de tratamento evidenciava apenas alterações secundárias a manipulação cirúrgica em região de coluna torácica. O LH primário epidural é uma entidade rara sendo até o momento relatado seis casos na literatura. Sabe-se que no linfoma de Hodgkin a infiltração do sistema nervoso central ocorre, em sua maioria, no contexto de doença avançada geralmente com acometimento ósseo concomitante e infiltração da medula espinhal por contiguidade. Não se sabe qual o melhor tratamento para o LH de localização exclusivamente epidural já que a penetração da quimioterapia clássica para Linfoma de Hodgkin em neuro-eixo é escassa. Na maioria dos artigos publicados o tratamento desse tipo de linfoma foi realizado como doença avançada (seis ciclos de ABVD com radioterapia). No caso desse paciente em questão ele foi submetido a 4 ciclos de ABVD associado a 30 Gy de radioterapia sendo o PET-CT realizado pós tratamento completamente negativo. No momento o paciente permanece em seguimento clínico trimestral, com remissão completa dos sintomas neurológicos. **Conclusão:** O LH primário epidural representa uma entidade rara (seis casos publicados na literatura) cuja melhor terapia é incerta e na maioria dos casos é tratado como LH avançado.

0520

Síndrome de Isaacs em paciente com linfoma de Hodgkin: relato de casoMuzzi GC¹, Monteiro DC¹, Cancela CS², Macedo AV¹*1 Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais – HPM, Belo Horizonte, MG
2 Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP, Ouro Preto, MG*

Introdução: A síndrome de Isaacs caracteriza-se pela atividade muscular contínua involuntária, atraso do relaxamento muscular, rigidez e aumento da sudorese. Descargas espontâneas de potenciais de unidade motora (PUM) são os principais achados da eletromiografia, observados como descargas mioquímicas ou neuromiotônicas generalizadas. Essas descargas ocorrem por alterações do estado de excitabilidade das porções terminais dos axônios motores, devido à ação de anticorpos contra canais de potássio voltagem-dependentes. A maioria dos casos é idiopática. No entanto, esses autoanticorpos podem estar relacionados à fisiopatogênese de determinadas síndromes paraneoplásicas secundárias a doenças linfoproliferativas. Há pouquíssimos relatos de sua associação com o linfoma de Hodgkin na literatura. **Objetivo:** Relatar um caso de síndrome de Isaacs em um paciente com linfoma de Hodgkin, subtipo esclerose nodular, ressaltando suas particularidades. **Relato de Caso:** Paciente do sexo masculino, 19 anos, atendido no pronto atendimento do Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais, em julho de 2012, com quadro subagudo de contrações musculares involuntárias, contínuas, fasciculação, e fraqueza muscular. Apresentava, ainda, acometimento de músculos laríngeos, com consequente disфонia. Optou-se pelo início imediato de tratamento com carbamazepina, com importante melhora do quadro de excitabilidade. Seguimento propedêutico revelou a presença de massa intratorácica, cuja biópsia mostrou-se compatível

com linfoma de Hodgkin, subtipo esclerose nodular. Estadiamento final (Cotswolds): IA. Decidiu-se, então, pelo início de quimioterapia sistêmica com o esquema "ABVD" (adriamicina, bleomicina, vimblastina, dacarbazina). Propostos quatro ciclos. Atualmente, o paciente encontra-se bem clinicamente, na segunda fase do primeiro ciclo de quimioterapia, com resolução quase completa do quadro de neuromiotonia. **Conclusão:** Este relato ilustra um caso raro de síndrome de Isaacs associada a um linfoma de Hodgkin, subtipo esclerose nodular. O quadro demonstra a importância da suspeição diagnóstica diante de apresentações clínicas semelhantes, de forma que o tratamento oportuno da doença de base, somado ao controle dos sintomas por meio do uso de anticonvulsivantes, possa permitir, como neste caso, a reversão, ao menos parcial, do quadro neuromotor. Um seguimento mais prolongado é necessário para melhor se avaliar a evolução clínica e a resposta ao tratamento do paciente em questão.

LINFOMAS NÃO-HODGKIN

0521

Linfoma não-Hodgkin anaplásico de grandes células T: relato de caso

Gaspar PC, Reis ML, Peres KC, Rudolf-Oliveira RC, Mengatto V, Dias BV, Durigon GS, Schiavon LL, Del-Moral JA, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

Introdução e objetivo: O Linfoma Não-Hodgkin (LNH) compreende um grupo heterogêneo de doenças linfoproliferativas que pode se originar a partir da proliferação clonal de linfócitos B, linfócitos T ou células *Natural-Killer* (NK). Estudos relatam que fatores hereditários, ambientais, ocupacionais e dietéticos podem estar envolvidos na etiologia da doença. Além disso, a utilização de alguns fármacos imunomoduladores, como a azatioprina, utilizada no tratamento da Doença de Crohn, também podem estar envolvidos no desenvolvimento de LNH. Segundo a Classificação de Neoplasias dos Tecidos Hematopoieticos e Linfóide realizada pela Organização Mundial de Saúde, em 2008, existem cerca de 20 subtipos de LNH. Dentre esses está o Linfoma Anaplásico de Grandes Células T (LAGCT), o qual é caracterizado por grandes células linfóides que expressam CD30 e mostram tendência à proliferação e à invasão dos linfonodos. O LAGCT é classificado em dois tipos: cutâneo e sistêmico. Esse último é subdividido em ALK positiva (ALK+) e ALK negativa. O diagnóstico diferencial é estabelecido principalmente pela imunofenotipagem e pela imunohistoquímica, por meio da expressão diferenciada de marcadores celulares. Diante disso, considerando-se a raridade da doença, o objetivo deste trabalho foi relatar um caso de LAGCT associado à Doença de Crohn. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 33 anos, em tratamento para Doença de Crohn com azatioprina e mezalazina há três anos, apresentou linfonodomegalia em diferentes regiões do corpo. Diante desse quadro clínico, foi realizada biópsia de um linfonodo axilar. Na análise morfológica, observaram-se células de grande tamanho, moderada relação núcleo-citoplasma, pleomorfismo nuclear, cromatina grosseiramente reticulada com dois ou três nucléolos. A imunofenotipagem por citometria de fluxo identificou 10% de células patológicas com fenótipo CD4+, CD5+, CD25+, CD30+, CD43+, CD45++. Na análise imunohistoquímica, as células patológicas expressaram CD3+, CD5+, CD30+, CD45+ e ALK+. Dessa forma, após a análise da morfologia e do imunofenótipo (citometria de fluxo e imunohistoquímica), foi possível diagnosticar o LAGCT ALK+, em estadiamento IV devido à presença de células tumorais localizadas em regiões extranodais (líquor e medula óssea). Após o estadiamento, o paciente foi submetido à quimioterapia sistêmica e intratecal com o protocolo Hiper-CVAD

(ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina e dexametasona). **Conclusão:** Após o término do tratamento, o paciente apresentou remissão da doença e atualmente encontra-se em acompanhamento ambulatorial. Diante raridade do LAGCT, ressalta-se a importância da atuação multiprofissional no ambiente hospitalar para um diagnóstico rápido e eficiente.

0522

Enteropatia perdedora de proteínas secundária a quimioterapia: relato de sucesso no tratamento com octreotida

Simoni LE^{1,2,3}, Fermino FA^{1,2,3}, Moral JA^{1,2,3}, Vieira AG^{1,2,3}, Dias BV^{1,2,3}, Soares TB^{1,2,3}, Durigon GS^{1,2,3}

¹ Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

² Hospital Universitário, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

³ Serviço de Hematologia, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

Introdução: Diarreia é complicação comum em pacientes em tratamento quimioterápico. Apesar de algumas drogas provocarem este paraefeito com maior frequência, outras afecções, além da ação direta do medicamento, devem ser lembradas como possíveis causas da alteração do hábito intestinal; entre elas, a Enteropatia Perdedora de Proteínas. A entidade é desencadeada por múltiplos fatores, seja por dano a mucosa intestinal ou devido a aumento da pressão linfática, os quais têm como consequência a espoliação proteica através do trato gastrointestinal com redução na concentração sérica de albumina e imunoglobulinas. **Relato de Caso:** Paciente feminina, com 20 anos, em tratamento quimioterápico para Linfoma da Zona Cinzenta iniciou protocolo R-CHOP sendo todas as sessões sucedidas por episódios de diarreia que acrescentaram grande morbidade ao tratamento. Visando o controle da diarreia, paciente passou ao esquema HYPER-CVAD, sem melhora sintomática. Já no primeiro ciclo, apresentou diarreia profusa, com instabilidade hemodinâmica e necessidade de admissão em UTI para suporte com drogas vasoativas. Paciente com cerca de 10-15 episódios por dia de diarreia líquida abriu quadro de hemorragia digestiva baixa com queda nos níveis de Hemoglobina sérica de 1,0 mg/dL em 24 horas. Pesquisa de *Clostridium difficile* nas fezes negativa, assim como ausência de microorganismos à coprocultura. Achados da colonoscopia e anatomopatológico das biópsias de cólon indicaram Colite Inespecífica. Durante a evolução do quadro, a concentração sérica de albumina caía progressivamente, apesar do grande aporte proteico na dieta oferecida, chegando ao nadir de 1,2 g/dL. Além da perda de albumina, paciente apresentava hipogamaglobulinemia. Com a suspeita de Enteropatia Perdedora de Proteínas foi realizado Clearance de α 1-antitripsina, o qual confirmou o diagnóstico. Instituído tratamento com Octreotida na dosagem de 100 mcg por via endovenosa três vezes ao dia, a paciente não apresentou novos episódios diarreicos após 12 horas da primeira dose. A droga foi suspensa após estabilização do hábito intestinal. A paciente evoluiu com evacuações normais após a alta hospitalar, assim como melhora nutricional importante, com ganho ponderal, albumina de 3,4 g/dL, além de IgG de 702 mg/dL em exames de controle 15 dias após o tratamento. Atualmente, a paciente em remissão da doença com quimioterapia suspensa após o 6º ciclo. **Discussão:** A Enteropatia Perdedora de Proteínas, doença que provoca perda proteica através das fezes, gera aumento da morbidade aos pacientes em tratamento quimioterápico, muitas vezes sendo ameaçadora a vida. O Octreotida, um análogo da somatostatina, já muito bem estabelecido no manejo de doenças como a Hemorragia Digestiva Alta, vem ganhando espaço na terapêutica de outras patologias, entre elas a Enteropatia Perdedora de Proteínas. Contudo, as constatações que levam ao emprego da droga nesta patologia devem-se a relatos de caso iso-

lados. É necessário um estudo delineado com o objetivo de comprovar a eficácia do tratamento com Octreotide em grandes grupos com este diagnóstico, tendo em mente que isto resultará na melhora da qualidade de vida, assim como a possibilidade de manutenção de tratamento com finalidade curativa para muitos pacientes.

0523

G-banding, spectral karyotype analysis and FISH identified 6q abnormalities and deletion of RB1 gene among the most common secondary abnormalities in blastoid mantle cell lymphoma

Oliveira FM, Alves AP, Silva FP, Falcão RP

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Mantle cell lymphoma (MCL) is a distinct subtype of malignant lymphoma characterized by the translocation t(11;14)(q13;q32), resulting in overexpression of cyclin D1 and cell cycle dysregulation. Additional chromosomal abnormalities are present in 55-60% of patients and are associated with a potential role in the oncogenic process. By using classical cytogenetic, FISH and spectral karyotype analysis (SKY) we better characterized the cytogenetic profile of secondary chromosomal abnormalities in 96 samples of blastoid MCL. Bone marrow and peripheral blood cells were used for *G-banding*, FISH and SKY analysis. Metaphase cells were obtained by using standard procedures and the subsequent cytogenetic analysis and interpretation were made according to the ISCN (2009). FISH analysis for the detection of t(11;14)(q13;q32), including probes for del(6q), 8q23 rearrangements, del(13q)(RB1 13q14), and del(17p) TP53 was performed on samples. Additionally we applied SKY analysis for those patients with complex chromosomal abnormalities (≥ 3 abnormalities). In order to confirm the molecular consequence of t(11;14)(q13;q32) and 8q23 rearrangements we evaluated the expression profile of cyclin D1 and MYCC, by real time PCR. Secondary chromosomal abnormalities were present in 81.2% of patients. Structural abnormalities were more frequently observed than numerical (71,8% and 28,1%, respectively). Most of the structural rearrangements included balanced translocations. Abnormalities associated to 6q, including deletions and balanced translocations represented 40.6% of the cases (n=39), by using *G-banding* analysis. 6q abnormalities were also confirmed by FISH and SKY. On the other hand, deletions of 13q14 were observed in 45.8% of the patients (n=44) and FISH identified heterozygous deletions of RB1 in all samples (n=44). Additionally, rearrangements involving 8q23 band represented 21.8% of the patients (n=21). However, among the profile of 8q23 rearrangements obtained, only ten patients presented Burkitt's like translocations [t(2;8)(p12;q24) and t(8;14)(q24;q32)]. MYCC expression was noted only in samples with t(2;8)(p12;q24) and t(8;14)(q24;q32). Additional samples that displayed 8q23 rearrangements (n=11), we found normal levels of MYCC, compared with normal controls. Deletions of 17p were observed in 7 patients, by *G-banding* analysis. However, FISH analysis for TP53 identified loss of this gene in 14 samples investigated. SKY analysis and FISH helped to clarify the cytogenetic profile of all samples with complex karyotype, including those whose chromosome morphology was not suitable for *G-banding* identification. In conclusion, our findings demonstrate that the combination of *G-banding* and molecular cytogenetic approach, as for example FISH and SKY are important for detection and better characterization of secondary abnormalities in MCL. We noted that some specific abnormalities, such as 6q, 8q23 rearrangements and del(13q)(RB1 13q14) were more frequently observed in our samples than other studies involving secondary/additional chromosomal abnormalities in MCL, and may reflect a consequence of genomic instability, disease progression and poor prognosis. This finding has important implications to predict outcome in MCL and should be applied in routine hematology laboratories.

0524

Síndrome de Sezary Hiperleucocitária: relato de caso

Prioste TD¹, Silva JO², Jeunon T², Natori CH¹, Gonzaga YB^{1,2}

¹ Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Hospital Federal de Bonsucesso - HFB, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A síndrome de Sezary (SS) é a variante leucêmica da micose fungóide(MF), a forma mais comum de linfoma cutâneo. Caracteriza-se por eritrodermia, associada a presença de linfócitos com núcleos convolutos ou cerebriformes, denominados células de Sezary (CS). A infiltração da medula óssea é rara e, quando presente, os infiltrados são espessos e predominantemente intersticiais. A transformação histológica da MF/SS caracteriza-se pela presença de > 25% de grandes células e ocorre predominantemente nos estágios tumorais, conferindo pior prognóstico à doença e devendo ser tratada com quimioterapia sistêmica. **Relato de Caso:** Masculino, 66 anos, evolução de 3 anos com máculas eritematosas em membros superiores e inferiores que há 6 meses assumiram conformação tumoral. As lesões coalesceram difusamente, configurando quadro de eritrodermia, que acometia 100% da superfície corporal. Submetido a biópsia de pele em três sítios, cujo histopatológico evidenciou infiltração de linfócitos pleomórficos, variando de pequenos a grandes, com núcleos convolutos, formando coleções intraepidérmicas. O estudo imunohistoquímico foi positivo para CD3 e negativo para CD20, CD30 e ALK, caracterizando um linfoma cutâneo não Hodgkin de células T. Exames laboratoriais: Leucometria de 213000/mm³, com presença de 80% de CS. Demais exames normais, exceto por DHL de 937U/L (N 240-480). Realizou Tomografia Computadorizada de Tórax, Abdome e Pelve que não evidenciaram linfonodomegalias e biópsia de medula óssea (BMO), que apresentava infiltração difusa por Linfoma não Hodgkin fenótipo T característico de MF (CD2, CD3, CD4, CD5 e TCR B+ e CD7 -) Devido ao quadro de transformação histológica, optou-se por início de quimioterapia (QT) sistêmica com esquema CHOP. Houve melhora do quadro cutâneo e redução da leucometria, porém havia retorno dos sintomas de prurido e piora da eritrodermia ao se aproximar a data do novo ciclo de QT. Optou-se por acrescentar etoposide ao CHOP após o 3º ciclo. Completou 6 ciclos de QT (3 CHOP + 3 CHOEP) com remissão parcial do quadro cutâneo (melhora sintomática importante) e hemograma com 16040 leucócitos/mm³ (40% de linfócitos) e DHL de 1232U/L. Solicitada nova biópsia de pele e BMO para reestadiamento e iniciado Interferon 3 X 10⁶U / d. Após 1 mês, o paciente retorna com quadro de eritrodermia difusa e aumento da leucometria para 106.000/mm³, com 80% de CS. BMO de reestadiamento mostrava infiltração difusa por linfoma T. Optou-se por reiniciar QT com Gemcitabina. Apresentou boa resposta ao 1º ciclo, com melhora importante da eritrodermia e normalização do hemograma. Atualmente, segue tratamento quimioterápico. **Discussão:** Na SS, a presença de mais de 10000 CS/mm³ no SP está associada a sobrevida global bastante reduzida quando comparada a pacientes com contagens menores. Além disso, a transformação histológica também confere prognóstico desfavorável, com menor sobrevida em 2 anos. A infiltração medular é rara e os infiltrados são normalmente esparsos e intersticiais. Relatamos o caso raro de um paciente que se apresentou com quadro leucêmico hiperleucocitário de SS, associado a transformação histológica e infiltração difusa da medula óssea. Até onde sabemos, trata-se do 1º caso relatado com essas características. O curso clínico foi bastante agressivo, com remissão parcial após 6 ciclos de QT sistêmica e recidiva precoce, novamente com quadro leucêmico hiperleucocitário, necessitando de novo esquema de QT.

0525

Doença linfoproliferativa pós-transplante renal: subtipos diagnosticados em 7 pacientesResende L¹, Uehara C², Adolfo B¹, Niéro-Melo L¹, Gaiolla R¹, Domingues MA³, Andrade LG⁴, Carvalho MF⁴¹ Hematologia, Faculdade De Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – FMB-UNESP, Botucatu, SP² Faculdade De Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – FMB-UNESP, Botucatu, SP³ Patologia, Faculdade De Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – FMB-UNESP, Botucatu, SP⁴ Serviço de Transplantes, Nefrologia, Faculdade De Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – FMB-UNESP, Botucatu, SP

Introdução: A doença linfoproliferativa pós-transplante (DLPT) corresponde a um espectro de proliferação linfóide e é uma das principais causas de morbidade em pacientes transplantados, principalmente nos receptores de órgãos sólidos. A incidência de DLPT em transplantes renais é de cerca de 1% a 3%. **Objetivo:** Apresentar casos de pacientes com DLPT pós-transplante renal diagnosticados e tratados na Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), UNESP. **Métodos:** Estudo clínico-laboratorial retrospectivo. **Resultados:** De junho de 1987 a dezembro de 2010, realizaram-se 523 transplantes renais na FMB, UNESP. Destes, 7 pacientes (1,34%) desenvolveram DLPT, sendo 4 homens e 3 mulheres. A média de idade ao transplante renal foi de 24 anos. O tempo médio de imunossupressão antes da DLPT foi de 6 anos. A média de idade ao diagnóstico da DLPT foi de 31 anos. Seis doadores eram vivos relacionados e um era cadáver. Um paciente teve DLPT polimórfica. Cinco pacientes tiveram DLPT monomórficas, sendo 3 linfomas difusos de grandes células B (LDGC-B), 1 linfoma não Hodgkin T (LNH-T) e 1 plasmocitoma extramedular. A DLPT de uma paciente correspondeu a linfoma de Hodgkin (LH) clássico. A DLPT polimórfica apresentou-se com febre, adenomegalia inguinal e esplenomegalia. Os 3 LDGC-B eram primários, respectivamente, de amígdala, de pilar palatino anterior e de sistema nervoso central (SNC), este último, com febre e múltiplos nódulos encefálicos que acarretaram convulsões, hipertensão intracraniana e distúrbio da marcha. O LNH-T manifestou febre, envolvimento hepatoesplênico e medular. O plasmocitoma foi diagnosticado em hipertrofia gengival pós-extração dentária e o LH localizou-se em nódulo linfático inguinal. Os 7 pacientes tinham sorologias negativas para o Epstein-Barr vírus (EBV) e vírus da hepatite C (VHC) antes do transplante, e todos tinham IgG positiva para o citomegalovírus (CMV). Em nenhum dos pacientes foi realizada sorologia para o herpes vírus humano tipo 8 (HVH-8). Duas pacientes, a com LDGC-B de SNC e a com LH, tiveram pesquisa positiva do genoma do EBV na neoplasia. Em outro paciente com LDGC-B, tal pesquisa resultou negativa. Nos outros 4, o exame não foi realizado. **Discussão:** A baixa incidência de DLPT em transplantes renais quando comparada com transplantes de outros órgãos sólidos, provavelmente, reflete necessidade de imunossupressão menos intensa nesse grupo de pacientes. Estudos recentes relatam maior incidência entre 36 e 40 meses após o transplante, sendo mais comum em crianças. Em nosso estudo, a prevalência foi de 1,34%, portanto, dentro do esperado. O principal fator de risco para o receptor do transplante desenvolver DLPT é a infecção pelo EBV, primária ou reativada, que ocorre devido à imunossupressão celular T decorrente dos imunossuppressores utilizados para prevenção de rejeição do tecido/órgão transplantado. Mais de 30% das DLPT são EBV-negativas, principalmente as de origem T, cuja etiologia permanece inexplicada, embora algumas possam estar associadas a infecções pelo VHC, CMV ou HVH-8. Verificamos tipos histológicos variados de PTLT em nossos pacientes, desde polimórficas até

monomórficas. Entretanto, os Resultados sugerem que a coleta dos exames sorológicos dos pacientes poderia ser ampliada ou mais rigorosamente registrada nos prontuários. Também deveria haver padronização, na Instituição, para que a pesquisa do genoma do EBV passasse a ocorrer em todos os casos.

0526

Linfoma difuso de grandes células B primário de medula óssea com anemia hemolítica autoimune como primeira manifestação: relato de casoVieira AG^{1,2,3}, Fermio FA^{1,2,3}, Dias BV^{1,2,3}, Santos-Silva MC^{1,2,3,4,5}, Moral JA^{1,2,3,4}, Durigon GS^{1,2,3,5}¹ Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC² Hospital Universitário, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC³ Serviço de Hematologia, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC⁴ Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC⁵ Programa de Pós Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC

Introdução: O linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) é o subtipo de linfoma mais incidente no Brasil. O comprometimento da medula óssea por um LDGCB é comum, mas a sua apresentação primária e isolada na medula óssea é uma entidade bastante rara. Já anemia hemolítica auto imune (AHAI) associada a doenças malignas linfóides embora raras, é uma complicação típica. Quase todos os tipos de Linfoma são associados a AHAI, mas a ocorrência em linfoma extranodal é extremamente rara. **Relato de Caso:** Trata-se de paciente do sexo feminino, com 87 anos, previamente hígida, admitida com queda do estado geral há 15 dias associada a astenia, palidez e icterícia. Na admissão apresentava: Hb: 4,3g/dl, HT: 12,8%, VCM 92fl, Leucócitos: 2650/mm³ (segmentados: 1417/mm³), Plaquetas: 180.000/mm³, Bilirrubinas totais: 4,0 (Indireta: 3,4), LDH: 406, GGT: 40, TGO: 24, TGP: 68. As sorologias para HIV, HTLV, EBV, CMV, e hepatites B e C foram negativas. O coombs direto foi positivo (+++ C3d) e PAI negativo. Iniciado corticoterapia sem resposta sustentada. A biópsia de medula óssea aliada à avaliação imunohistoquímica mostrou infiltração por linfoma não Hodgkin de grandes células B em cerca de 30% da amostra. Observou-se ainda intenso retardo maturativo da série granulocítica; megacariócitos intensamente hiperplasiados (ora hiperlobulados e bizarros); série vermelha com megaloblastose moderada; e trama reticulínica difusamente aumentada (+++/4). As tomografias realizadas não demonstraram linfonodomegalias ou comprometimento de outros órgãos. A paciente foi submetida a seis ciclos de quimioterapia CHOP associada com o anticorpo monoclonal anti-CD20 Rituximab com boa tolerância. A reavaliação de medula óssea confirmou uma resposta completa e a paciente mantém-se com hemograma normal três meses após o término do tratamento. **Discussão:** O LDGCB primário de medula óssea é um subtipo raro de neoplasia hematológica e com poucos dados na literatura sobre prevalência, mas estudos de Chang *et al* relataram uma incidência 1,16% de todos os linfomas. Também o estudo de Moreno *et al* demonstrou 7% de incidência de citopenias autoimunes e 5% de AHAI em pacientes com Leucemia Linfóide Crônica. Essa ocorrência de AHAI em linfomas é conhecida, mas no LDGCB é muito rara. O tratamento considerado como primeira linha para AHAI, que é baseado em corticosteroide, não se obtém boa resposta, devendo considerar o tratamento quimioterápico para o LDGCB. **Conclusão:** Relatamos um caso de LDGCB primário de medula óssea associado a AHAI como primeira manifestação da doença, condições que se consideradas isoladas já são muito raras. O caso em questão obteve boa resposta ao tratamento baseado em quimioterapia e anticorpo monoclonal anti-CD20, tanto da AHAI quanto do LDGCB.

0527

Simultaneous presentation of paracoccidioidomycosis and non-Hodgkin lymphoma: a case report

Stefanello B, Barroso KS, Duarte BK, Yamaguti GG, Pericole FV, Souza CA, Lorand-Metze IGG, Moura MS, Benevides TC, Dias MA, Percout PO

Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Background: Paracoccidioidomycosis is a fungal disease caused by *Paracoccidioides brasiliensis* endemic in Brazil, with a clinical presentation similar to lymphoproliferative disorders such as lymphomas. Little is known about the association of both diseases. **Aims:** To report a case of a patient diagnosed with acute/subacute disseminated paracoccidioidomycosis and diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) simultaneously. **Methods:** M.H.R.P was a 22-year-old male, referring weight loss (16kg) for two months, pruritus and daily fever. After empirical treatment with penicillin, he developed a mucocutaneous erythematous papular rash. After admission to our clinic he was treated with corticosteroids as Stevens-Johnson's syndrome, with little improvement. Cytologic analysis of oral and esophageal ulcers was positive for herpes simplex and acyclovir was initiated. The initial physical examination detected an enlarged liver and chest and abdominal CT scans revealed thoracic and paraaortic lymphadenomegaly and diffuse hypodense nodules in the liver and spleen. Liver biopsy was performed and diagnosis of DLBCL was made. The patient developed cutaneous abscesses and ulcers and rapidly growing bilateral cervical lymphadenomegaly; direct examination of an abscess aspirate showed *Paracoccidioides brasiliensis*. Given the diagnosis of fungal infection in a patient with DLBCL it was decided to treat the patient with Amphotericin B for a week and then initiate chemotherapy with R-CHOP. Transthoracic echocardiography performed before chemotherapy showed moderate pericardial effusion with hemodynamic repercussion. Six days after beginning antifungal treatment, 300mL of pericardial fluid was drained and cytological analysis showed atypical lymphocytes. One day after the procedure, chemotherapy was started. At that night the patient was lethargic and developed acute respiratory distress needing orotracheal intubation and mechanical ventilation. Despite all efforts in 8 hours the patient died of unknown causes. Blood work showed acute renal failure and elevated liver enzymes. Blood cultures were negative. Massive pulmonary embolism and obstructive shock was thought to be the most likely diagnosis. Autopsy was not performed due to parents' request. **Results:** Rapidly evolving lymphadenopathy and cutaneous lesions suggests Acute/Subacute Disseminated Paracoccidioidomycosis, such presentation occurs in only 5% of cases. The clinical similarities between this fungal disease and DLBCL impair our ability to properly evaluate the extension of each disease. We considered a stage IV B lymphoma (pericardium and liver as extranodal sites). The choice of the most adequate treatment in this situation imposes a challenge, since chemotherapy induced mielotoxicity could further worsen the fungal infection and, in turn, treatment with amphotericin B is associated with many side effects and toxicities. As far as we know there's no evidence in literature to guide this decision. **Summary:** This is the first report of the association between acute tropical fungal infection by *Paracoccidioides brasiliensis* and high grade non-Hodgkin lymphoma, presenting simultaneously. Staging and treatment of both diseases and its complications is a challenge. The unfavorable outcome shows the need of a better understanding of this association to help improve diagnostic and therapeutics of both conditions.

0528

Serum free light chain is not a good biomarker to predict post-transplant lymphoproliferative disorder development in renal transplanted patients

Fernando RC¹, Rizzatti EG², Braga WM¹, Santos MG², Oliveira MB¹, Pestana JO³, Baiocchi OC¹, Colleoni GW¹

¹ Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

² Instituto Fleury de Ensino e Pesquisa, Grupo Fleury, São Paulo, SP

³ Hospital do Rim e Hipertensão, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Introduction: Post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD) is a life-threatening Epstein-Barr virus (EBV)-driven B-cell malignancy occurring in 1-4% of renal transplanted patients. EBV DNA quantification has become a useful tool for identifying patients at risk of developing PTLD. However, studies on EBV load differ in source of sample, methodology and patients' characteristics, making it difficult to compare data from different studies. Therefore, other less expensive and more reproducible methods to predict PTLD development are needed. Recently, some studies have shown a correlation between increased levels of serum free light chains (sFLC) and high risk of development of lymphoproliferative diseases in autoimmune disorders, hepatitis C and Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). However, none of those studies has assessed the value of sFLC as a predictive biomarker for the development of lymphoproliferative disorders. **Objectives:** The aim of the present study was to determine the predictive value of sFLC quantification for the development of PTLD, using serum samples from a nested case-control cohort of renal transplanted patients and from EBV-positive and negative subjects as comparative groups. **Methods:** Ten new cases of PTLD after renal transplant were enrolled at University Hospital São Paulo and Hospital do Rim e Hipertensão, Brazil. Forty-six controls (4-5 per case) matched by age, date of transplant, type and dosage of immunosuppression, and history of rejection episodes were selected from the cohort. The diagnosis of PTLD was confirmed histologically by two experienced pathologists and classified using the WHO criteria. The comparison groups consisted of 5 HIV-infected/AIDS individuals with CD4 count less than 100 cells/mm³, 5 recently diagnosed and untreated Hodgkins lymphoma patients, 4 normal blood donors and 2 children aged from 6 to 18 months (with EBV-negative serology). The samples were collected and stored at -80°C for 10 to 12 years and all of them were in conditions of use for the current study. In all samples, serum κ and λ FLC concentrations were measured by nephelometry and compared with reference ranges (κ : 0.33-1.94 mg/dL; λ : 0.57-2.63 mg/dL). However, as cases and controls do not have always "normal" renal function, the ratio between κ and λ was compared with a new reference range for patients with kidney failure (renal range, κ/λ : 0.37-3.17), whereas for comparison groups, who have normal renal clearance, the ratio was compared with the normal range (κ/λ : 0.26-1.65). **Results:** sFLC levels were abnormal (κ and/or λ above the normal range) in 90% of cases and 65% of controls (matched transplanted patients with no PTLD). There was no statistically significant difference between all groups, except for λ FLC concentrations between PTLD cases and normal blood donors and EBV-negative children ($p=0.016$). The κ/λ sFLC ratios of cases and controls were within the renal range and even within normal range, i.e., no monoclonal cases were detected by this method using two cut-offs possibilities. **Conclusion:** Our results suggest that sFLC is not useful to predict PTLD development in renal transplanted recipients. Therefore, more studies are needed to find a biomarker capable of predicting the development of PTLD in renal transplanted recipients.

0529

Síndrome de hiperinfestação por strongyloides stercoralis resistente em paciente portadora de leucemia/linfoma de células T do adulto

Mariano LC¹, Lage LA^{1,2}, Xavier EM¹, Costa RO^{2,3}, Pereira J^{1,2}¹ Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FM-USP, SP² Instituto do Câncer do estado de São Paulo – ICESP, São Paulo, SP³ Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Santos, Santos, SP

Introdução: Leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) é uma neoplasia de células T maduras derivada de células T ativadas pós-tímicas associada ao vírus HTLV-1. ATLL apresenta uma grande variedade de sintomatologia, desde formas indolentes até formas muito agressivas. A imunidade celular é severamente comprometida e os pacientes podem desenvolver diferentes infecções oportunistas. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, 17anos, é admitida com dor abdominal, diarreia e perda de 13kg. Na investigação diagnóstica foram tratadas três infecções concomitantes: estrogiloidiase, monilíase esofágica e giardíase. Após um ano, paciente foi admitida com mesmo quadro e diagnosticada estrogiloidiase. Na internação, foi descoberta sorologia positiva para os vírus HTLV-1 E HTLV-2. Tomografia computadorizada de abdome revelou linfonodos mesentéricos, cujo anatomopatológico mostrou hiperplasia linfóide reacional. Imunofenotipagem de sangue periférico revelou população linfóide T anômala com fenótipo CD3+dim, CD4+, CD7-, CD8- e CD25+ hiperexpresso, confirmando o diagnóstico de ATLL na forma smoldering. Realizado tratamento com interferon alfa e zidovudina e profilaxia com sulfametoxazol e trimetoprim. Paciente manteve períodos de diarreia, apesar de diversos tratamentos para infecções oportunistas. Em um ano, paciente evoluiu com piora das lesões de pele e linfonomegalia cervical. Em 3 meses, houve progressão da adenomegalia para outras regiões, além do aparecimento de esplenomegalia, caracterizando transformação para a forma linfomatosa. Em 2 semanas, paciente foi admitida com tosse, febre e deterioração do estado geral. A despeito das medidas, a paciente faleceu de estrogiloidiase disseminada. **Discussão:** O HTLV-I pertence ao grupo dos retrovírus tipo delta. O diagnóstico depende de critérios clínicos e laboratoriais. A avaliação laboratorial inclui o hemograma, análise de esfregaço e imunofenotipagem de linfócitos. Linfocitose com células de tamanho médio, cromatina densa e polimorfismo nuclear de padrão convoluto é a marca da ATLL. O fenótipo comum é CD3dim, CD4bright, CD25dim e CD7(-). HTLV-1 deve ser confirmada por western-blot e uma inserção de DNA viral em linfócitos com padrão monoclonal é o padrão-ouro para o diagnóstico. A forma mais agressiva e frequente da ATLL é a aguda, que apresenta linfocitose marcante, níveis elevados de LDH, hepatoesplenomegalia, lesões de pele e hipercalcemia. A forma linfomatosa caracteriza-se por adenomegalias, visceromegalias e menos de 1% das células neoplásicas no sangue. As formas smoldering e crônica são mais indolentes e podem apresentar lesões de pele, infiltrado pulmonar e contagem de linfócitos normais. A imunidade celular está comprometida e infecções oportunistas com um curso fatal como pneumonite por *Pneumocystis jirovecii*, citomegalovírus, *Strongyloides stercoralis*, *Mycobacterium avium* e fungos podem surgir. ATLL permanece incurável e apenas uma resposta transitória pode ser adquirida. Os subtipos agressivos devem ser tratados, mas as formas indolentes podem ser acompanhadas. Antes da quimioterapia e mesmo em portadores de HTLV-1, a infecção intestinal por *Strongyloides stercoralis* é comum. **Conclusão:** Embora seja uma doença rara, infecção por HTLV-1 e ATLL manifesta devem ser incluídas no diagnóstico diferencial de estrogiloidiase de difícil erradicação.

0530

Síndrome nefrótica como manifestação de linfoma não-Hodgkin: relato de caso

Musacchio JG, Hori M, Mercante D, Pizzino C, Lavelle A

Clinicas Oncológicas Integradas – COI, Rio de Janeiro, RJ

Paciente do sexo masculino, com 52 anos, internado para biópsia de grande massa retroperitoneal cujo laudo histopatológico inicial foi compatível com linfoma difuso de grandes células. Relato de sudorese e emagrecimento de 5 kg. Iniciado tratamento com esquema CHOP pelo oncologista, tendo evoluído com insuficiência renal aguda por síndrome de lise tumoral. Instituída diálise com melhora evolutiva das escórias nitrogenadas. Ao exame não apresentava linfadenomegalias periféricas, porém tinha maciez móvel de decúbito e edema (4+/4+) de membros inferiores até raiz da coxa e bolsa escrotal. Os exames realizados demonstraram albumina sérica de 1,2 g/dL, hipercolesterolemia e albuminúria de 36 g nas 24h. A imunohistoquímica confirmou o diagnóstico de linfoma difuso de grandes células B com positividade para CD20. O parecer da nefrologia corroborou a hipótese de síndrome nefrótica por glomerulonefrite membranosa / lesão mínima secundária à doença linfoproliferativa. Após relativa melhora clínica do paciente, reiniciado o tratamento quimioterápico com R-CHOP, com reversão do quadro de síndrome nefrótica. No momento, o paciente encontra-se em remissão completa de doença e assintomático após 2 anos do término do tratamento (6 ciclos de CHOP + 8 ciclos de rituximabe). De 5 a 20% dos pacientes com glomerulonefrite membranosa têm alguma neoplasia, mais comumente tumores sólidos e menos frequentemente neoplasias hematológicas. Em geral, a síndrome nefrótica, que pode preceder o aparecimento do câncer, regride gradualmente com o tratamento da doença de base, como ocorreu no caso descrito.

0531

Granulomatose linfomatóide como espectro morfológico de doença linfoproliferativa pós transplante: relato de um caso

Yamakawa PE, Bezerra ED, Lage LA, Costa RO, Pereira J

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: Doenças linfoproliferativas pós transplante (DLPT) são reconhecidas como complicação importante após transplante de órgãos sólidos e uso de imunossupressores. A granulomatose linfomatóide é doença rara, de aspecto morfológico angiocêntrico, angiodestrutivo e necrotizante, com estreita relação com infecção por vírus de Epstein-Barr (EBV). Embora possa afetar qualquer órgão, frequentemente envolve parênquima pulmonar, pele, rins e sistema nervoso central. **Objetivo:** Relatar caso de um homem com diagnóstico de granulomatose linfomatoide pós transplante cardíaco, padrão morfológico não usual de DLPT. **Relato de Caso:** Paciente masculino de 70 anos, antecedentes de hipertensão arterial sistêmica e insuficiência coronariana, realizou transplante cardíaco em 2010 por cardiomiopatia dilatada de etiologia isquêmica, recebendo imunossupressão pós transplante com ciclosporina 200mg/dia, micofenolato de mofetil 360mg/dia e prednisona 2,5mg/dia. Evoluiu com mediastinite no pós transplante tardio, realizando tomografia de tórax que mostrou múltiplos nódulos pulmonares bilateralmente e massa pulmonar de 3,3 x 2,9 cm em lobo inferior direito. Apresentava perda ponderal de 8 quilos em um ano. Realizou biópsia de lesão pulmonar em outro serviço, cujo diagnóstico foi granulomatose linfomatóide com acentuado angiocentrismo e angiodestruição, grau 3, com reação imunohistoquímica para LMP 1 positivo. A revisão de biópsia do nosso serviço confirmou tratar-se de Linfoma não Hodgkin difuso de grandes células

B angiocêntrico e necrotizante, CD20 positivo, EBV positivo e Ki-67 positivo (alto índice), estadiado como Estadio Clínico Ann Arbor IVB, IPI intermediário baixo, R-IPI bom. Em Discussão com equipe do transplante cardíaco, teve redução da imunossupressão contra indicada pelo alto risco de rejeição de enxerto. Optado por realizar Rituximab, recebendo no total seis ciclos com dose de 375mg/m² semanal, de maio a junho de 2011. Paciente evoluiu com boa resposta, tendo realizado PET-TC um mês após terapia, mostrando redução considerável de massa pulmonar (1,2x 1,1 cm) e de SUV (13â 1,9). Após um ano de seguimento no nosso serviço, mantém remissão clínica completa. **Discussão:** DLPT de órgão sólido é complicação importante, com incidência estimada de 5-9% em transplantados cardíacos e mais frequente no primeiro ano pós transplante. A granulomatose linfomatóide é uma linfoproliferação B sistêmica com diagnóstico dificultado pela variada apresentação clínica, aspecto radiológico inespecífico e padrão morfológico polimórfico. Assim, não raro suas manifestações clínico-histológicas podem mimetizar doenças infecciosas, vasculites necrotizantes e neoplasias metastáticas. Apesar do avanço na terapêutica, a mortalidade ainda é alta na maioria das séries relatadas, e o prognóstico pode ser melhorado com reconhecimento precoce e tratamento adequado da doença. Há poucos dados na literatura sobre seu manejo. Recentemente têm sido relatado tratamento com anticorpo monoclonal anti CD20, associado ou não a quimioterapia. Relatamos um caso do nosso serviço de granulomatose linfomatóide pós transplante cardíaco tratado efetivamente com monoterapia com Rituximab, mostrando que este pode ser considerado no tratamento desta doença, mesmo em apresentação patológica de padrão monomórfico como a granulomatose linfomatóide grau III.

0532

Linfoma da zona marginal esplênico com linfócitos vilosos: relato de caso

Pereira CC, Monteiro PJ, Lima MH, Valenca DS, Vale LL, Brasileiro RB, Neves FF, Gomes CL, Botelho LF, Filho GEG

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: O linfoma da zona marginal esplênico (LZME) constitui menos de 5% de todos os linfomas não Hodgkin (LNH), ocorre em média aos 65 anos e tem prognóstico favorável. Acredita-se que esse linfoma de células B surja a partir de um estímulo antigênico crônico, como o promovido pelo vírus da hepatite C. O quadro clínico caracteriza-se por esplenomegalia, linfocitose e citopenias. Diferente de outros LNH, adenomegalias e envolvimento de órgãos não linfóides é incomum. Sintomas sistêmicos, como sintomas B, e elevação da DHL são raros. O diagnóstico pode ser feito através da histologia do baço e imunofenotipagem, com antígenos de células B (CD20, 23) presentes e, geralmente CD5 negativo. A célula típica, que pode estar ausente, é o linfócito viloso. **Relato:** Paciente de 54 anos, masculino, com história de dor abdominal em hipocôndrio, flanco e fossa ilíaca esquerdos há 11 meses. Relata início súbito, irradiação para região lombar ipsilateral e caráter fixo, com piora aos mínimos esforços. Há 6 meses, notou aumento do volume abdominal, surgimento de dispnéia aos médios esforços e dor em ombro E (sinal de Kehr). Refere perda ponderal de 10 kg em 11 meses, mas ausência de febre e sudorese. Apresentava linfonodos palpáveis axilares (bilateralmente), submandibulares (bilateralmente, 1 cm), pré-auriculares esquerdo (0,5cm) e direito (1cm), cervicais anteriores direito (1cm) e esquerdo (0,5cm), cervical posterior direito (0,5cm) e vários linfonodos, bilateralmente, em região inguinal. Todos móveis, de consistência fibroelástica e indolores. Ao exame físico abdominal, apresentava abdome semigloboso, assimétrico com elevação à esquerda, flácido e indolor, com baço palpável até nível de fossa ilíaca esquerda. À percussão, maciez em hipocôndrios, flanco e fossa ilíaca esquerdos e timpanismo em demais. Para esclarecimento diagnóstico, foram

realizados exames complementares. Ao hemograma, anemia (Hb = 9,23 g/dL), leucocitose (35.800/mm³) com linfocitose (52% - 18.616/mm³) e plaquetopenia (131.700/mm³). Ultrassom de abdome total demonstrou baço de dimensões aumentadas e ecotextura preservada, medindo 24,2 x 10,3 x 15,9 cm, concluindo-se esplenomegalia. O Anti-HCV foi não reagente, DHL de 202 U/L e mielograma com hiperplasia linfóide a esclarecer. A imunofenotipagem foi compatível com doença linfoproliferativa B (CD5-/ CD23+) e, no esfregaço de sangue periférico, presença de linfócitos vilosos. Após confirmação diagnóstica, o paciente foi submetido a uma esplenectomia. **Conclusão:** No presente caso, como a biópsia esplênica não era disponível, o diagnóstico baseou-se na clínica e nos achados morfológicos e imunofenotípicos do esfregaço de sangue e mielograma. Acredita-se que a forma com linfócitos vilosos circulantes representa a manifestação leucêmica do linfoma. A esplenectomia é o tratamento padrão-ouro em pacientes com HCV negativo, como o caso relatado, e tem 90% de resposta clínica.

0533

Mortalidade por linfomas de 2000 a 2010: Brasil vs. Paraíba

Neves FF, Lira AR, Monteiro PJ, Lima MH, Dantas SG, Valenca DS, Vale LL, Cavalcanti LH, Moreira PA, Botelho LF

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: O estudo do padrão da mortalidade é uma fonte essencial para a compreensão do perfil epidemiológico das doenças nas populações, possibilitando intervenções diretas sobre os fatores causais. O linfoma representa a quinta causa de morte em pacientes oncológicos, perdendo apenas para os cânceres de próstata, mama e tubo digestivo. Tem maior incidência em adultos jovens do sexo masculino, entre 25 e 30 anos. Existem basicamente dois tipos: de Hodgkin (LH) e não-Hodgkin (LNH). No Brasil, surgem cerca de 60 mil novos casos ao ano, a maioria em estágio avançado com dificuldades para o tratamento. Segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), em 2004 foram registradas 3.194 mortes por linfoma no Brasil, uma média de 8,5 mortes por dia. Já em 2010, foram 4216 mortes. A incidência do LNH cresceu significativamente nas últimas duas décadas, sendo a segunda neoplasia hematológica mais prevalente em ambos os sexos. O número de casos de LNH no Brasil duplicou nos últimos 25 anos, principalmente entre pessoas com mais de 60 anos, o que diverge dos países desenvolvidos onde tem ocorrido declínio ou estabilidade das taxas de mortalidade por este tipo de linfoma. Com base nos dados da Organização Mundial de Saúde, em 1996 e em 2004 se pode observar que, enquanto as taxas de mortalidade diminuíram em vários países, no Brasil ocorreu um aumento considerável. Esses dados apontam a importância de examinar, de forma mais aprofundada, o comportamento epidemiológico dos linfomas, principalmente do LNH. Desta forma, o objetivo deste estudo foi analisar as taxas de mortalidade por linfomas no período de 2000 a 2010, comparando-se a mortalidade por LH e LNH, e avaliando as tendências dessas taxas na Paraíba e no Brasil. **Métodos:** Este estudo realizou uma análise epidemiológica descritiva dos dados referentes à mortalidade por Linfomas (LH e LNH) na Paraíba e no Brasil, tendo como fonte de dados o Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM) disponibilizado pelo Datasus no período supracitado. Os cálculos foram obtidos a partir de números absolutos contidos no SIM, utilizando-se a média aritmética e a porcentagem. Utilizou-se o Programa Microsoft Excel para realizar os cálculos, construir tabelas e gráficos. **Resultados:** Tanto no Brasil quanto na Paraíba houve grande predominância da mortalidade por LNH em relação ao LH no período estudado, constituindo 84,54% das mortes por linfoma na Paraíba, e 88,2% no Brasil. De modo geral, no Brasil, o número de mortes por linfomas aumentou 25% de 2000 a 2010

de forma lenta e progressiva. Já na Paraíba houve um aumento de 72,13%, caracterizado por decréscimo significativo no número de mortes por LH e aumento importante na taxa de mortalidade por LNH. Logo, o gráfico que representa a mortalidade na Paraíba evidenciam uma curva com tendência à progressão, enquanto que o gráfico nacional mostra um comportamento mais estável. **Conclusão:** A velocidade de crescimento das taxas de mortalidade por linfomas na Paraíba encontra-se bem mais elevada e irregular do que a do Brasil, à custa do LNH. Entre as possíveis explicações, pode-se considerar a melhora no diagnóstico devido ao desenvolvimento tecnológico no estado, mais tardio em relação ao país. Em contrapartida, questiona-se a possibilidade de aumento da exposição a diversos fatores de risco ambientais, predisponentes ao LNH. Esses dados permitem um despertar para a investigação de tais fatores.

0534

Linfoma não-Hodgkin: uma análise do estadiamento ao diagnóstico de pacientes em uma população de um centro de alta complexidade em oncologia no Estado do Ceará

Albuquerque CA^{1,2}, Oliveira DS³, Lisboa RP³, Sousa TB³, Vasconcelos SP³, Costa PF^{1,3,4}, Silva SL^{1,2}

¹ Universidade de Fortaleza - UNIFOR, Fortaleza, CE

² Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, Fortaleza, CE

³ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

⁴ Centro Regional Integrado de Oncologia – CRIO, Fortaleza, CE

O estadiamento de pacientes portadores de câncer tem como objetivo identificar a extensão dos tumores, auxiliando na determinação da conduta adequada a cada caso e predição do prognóstico. Objetivando identificar o estadiamento no momento do diagnóstico dos pacientes com Linfoma Não-Hodgkin, na população cearense, e visando demonstrar a importância de um maior esforço na identificação precoce da doença, foi realizado um estudo retrospectivo, descritivo e quantitativo realizado em um Centro de Alta Complexidade em Oncologia, o Centro Regional Integrado de Oncologia – CRIO, no período de junho e julho de 2011. Foram levantados os dados de pacientes com Linfoma Não-Hodgkin com entrada no CRIO durante os anos de 2000 a 2011, que receberam tratamento Quimioterápico e/ou Radioterápico, sendo excluídos pacientes descritos como portadores de Linfoma Não-Hodgkin sem anexo em prontuário o laudo histopatológico, totalizando 54 pacientes. Foi analisado o estágio de 54 pacientes, dos quais 8 pacientes encontravam-se no ESTADIO I (14,81%); 20 pacientes no ESTADIO II (37,04%); 13 pacientes no ESTADIO III (24,07%); e 13 pacientes no ESTADIO IV (24,07%). 7 pacientes (10,48%) apresentaram Doença de Bulky, caracterizada pela presença de uma massa que excede 10cm em seu maior diâmetro ou uma massa mediastinal que ultrapasse um terço do diâmetro transversal transtorácico (raio X Antero-posterior ao nível de T5-T6). Percebe-se que quase metade (48,14%) dos pacientes analisados, foram diagnosticados em estágios já avançados da doença (estádios III e IV). Os estudos mostram que o prognóstico do paciente é mais relacionado ao tipo histológico do que ao estadiamento, porém uma melhor resposta ao tratamento é atingida quando a doença é diagnosticada mais precocemente. Conclui-se, portanto, a necessidade de um maior rapidez na detecção desta enfermidade para que se consiga melhores respostas aos tratamentos, aumento assim a sobrevida desses pacientes.

0535

Linfoma não-hodgkin: prevalência dos tipos histológicos em uma população de um centro de alta complexidade em oncologia no Estado do Ceará

Albuquerque CA^{1,2}, Oliveira DS³, Lisboa RP³, Vasconcelos SP³, Sousa TB³, Costa PF^{1,3,4}, Silva SL^{1,2}

¹ Universidade de Fortaleza - UNIFOR, Fortaleza, CE

² Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, Fortaleza, CE

³ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

⁴ Centro Regional Integrado de Oncologia

O Linfoma Não-Hodgkin é classificado pela Organização Mundial de Saúde em Linfoma Difuso de Grandes Células B, Linfoma Folicular, Linfoma MALT, Linfoma de Células T Maduras, Linfoma de Pequenos Linfócitos, Linfoma de Células do Manto, Linfoma Mediastínico de Grandes Células B, Linfoma Anaplásico de Grandes Células, Linfoma de Burkitt, Linfoma de Zona Marginal Linfonodal, Linfoma Linfoblástico de Precusores das Células T, Linfoma Linfoplasmocítico, dentre outros. Visando compreender a incidência dos tipos histológicos do Linfoma Não-Hodgkin em uma população do Ceará, Brasil e otimizar o manejo do tratamento nos pacientes portadores dessa afecção, foi realizado um estudo retrospectivo, descritivo e quantitativo em um Centro de Alta Complexidade em Oncologia, o Centro Regional Integrado de Oncologia – CRIO, no período de junho e julho de 2011. Foram levantados os dados de pacientes com Linfoma Não-Hodgkin com entrada no CRIO durante os anos de 2000 a 2011, que receberam tratamento Quimioterápico e/ou Radioterápico. Foram excluídos pacientes descritos como portadores de Linfoma Não-Hodgkin sem laudo histopatológico anexado ao prontuário. Analisou-se 66 pacientes, cujas classificações histológicas foram: 36 possuíam Linfoma Não-Hodgkin do tipo Difuso de Grandes Células B (54,5%); 8 do tipo Difuso de Pequenas Células B (12,1%); 4 do tipo Difuso de Grande e Pequenas Células B (6,1%); 1 do tipo Grandes Células B Interfoliculares (1,5%); 1 do tipo Linfoplasmocítico (1,5%); 6 do tipo Folicular de Grande Células B GII (9,1%); 1 do tipo MANT (1,5%); 3 do tipo MALT (4,5%); 1 do tipo Linfoblástico (1,5%); 2 do tipo Zona Marginal (3%); 1 do tipo Difuso de Alto Grau (1,5%); 1 do tipo Grandes Células Anaplásicas (1,5%); e 1 encontrava-se NÃO-ESPECIFICADO (1,5%). Segundo dados de estudos internacionais o tipo histológico mais prevalente é o Linfoma Difuso de Grandes Células B (31%), seguido, respectivamente, por Linfoma Folicular (22%) e Linfoma MALT (7,6%). No presente estudo, o tipo mais comum encontrado também é o Linfoma Difuso de grandes células B. Entretanto, na epidemiologia cearense o tipo histológico Linfoma Folicular apresenta-se menos prevalente que o Linfoma MALT, diferindo, assim, do perfil epidemiológico internacional. Conclui-se, portanto, que nos pacientes analisados no presente estudo, o tipo histológico mais prevalente de Linfoma Não-Hodgkin foi do tipo em Linfoma Difuso de Grandes Células B, seguido por Linfoma Difuso de Pequenas Células B e por Linfoma tipo MALT.

0536

Esferocitose hereditária e linfoma não Hodgkin, uma associação rara com manifestação comum: relato de caso

Silva HF^{1,2}, Rocha AC^{1,2}, Junior NEG^{1,2}, Barbosa FF^{1,2}, Mendona EC^{1,2}, Barbosa SA², Brasileiro RB², Mota DM², Oliveira DS^{1,2}, Correa JW^{1,2}

¹ Universidade Estadual do Ceará – UECE, Fortaleza, CE

² Hospital Geral César Cals de Oliveira - HGCCO, Fortaleza, CE

Introdução: A Esferocitose Hereditária (EH) é uma doença hematológica benigna de transmissão autossômica dominante, com gene de expressão variável. É uma doença hemolítica constitucional com grande heterogeneidade de manifestações clínicas, que vão desde uma doença assintomática à anemia hemolítica fulminante. Mutações genéticas intrínsecas provocam defeitos nas proteínas de membrana das hemácias, levando a forma esférica do eritrócito. Por outro lado, os Linfomas não Hodgkin (LNH) constituem um grupo heterogêneo de neoplasias malignas do sistema linfóide com apresentação clínica, história natural, e resposta à terapia variável, sendo um dos dez tipos de câncer mais incidentes. Nesse trabalho descrevemos uma associação de duas doenças hematológicas: EH e LNH. **Métodos:** Trata-se de um estudo descritivo do caso de uma paciente internada na Unidade de Hematologia do HGCCO no período de 8 de maio a 2 de junho de 2012. **Relato de Caso:** Mulher, 60 anos, branca, casada, ex-professora, procedente de Itarema-CE, foi admitida na Unidade de Hematologia do HGCCO com queixa de fraqueza de longa data, intensificada nos últimos meses, associada à perda ponderal de 20% do peso corporal nos últimos 6 meses. Referiu várias hemotransfusões, a última realizada há 4 meses. Na admissão, apresentava palidez cutâneo-mucosa, discreta icterícia, linfonodomegalia sistêmica, o maior linfonodo em região cervical medindo 2cm, e acentuada esplenomegalia. Após uma investigação inicial, aventou-se a hipótese de EH a partir do achado de esféricos no sangue periférico, confirmado pelo desvio à direita na curva de fragilidade osmótica das hemácias. Devido à piora sintomática recente, à perda ponderal importante e à presença de linfonodomegalias, foi realizada biópsia de linfonodo cervical que revelou linfonodo com arquitetura subvertida, apresentando células de tamanho médio a grande e núcleos vesiculosos. Os achados foram indicativos de LNH de grandes células, tendo sido realizada imunofenotipagem complementar que revelou tratar-se de LNH difuso de células B (CD 20 e CD 45 positivos, marcação difusa). Neoplasia diagnosticada em estágio III B e iniciado o esquema quimioterápico R-CHOP. **Conclusão:** A associação entre doenças hematológicas é um assunto pouco abordado na literatura. A paciente apresentou um quadro de anemia crônica descompensada pelo surgimento de uma neoplasia hematológica agressiva. Apesar de a literatura não fazer referência à associação entre EH e LNH, fica claro que essa ocorrência simultânea é um desafio à prática clínica, uma vez que a presença de uma interferiu na apresentação clínica da outra enfermidade.

0537

Linfoma de zona marginal esplênico com recaída tardia na forma de linfoma MALT pulmonar: relato de caso

Centrone RT¹, Matos JL¹, Bellesso M¹, Santucci R¹, Kuhn TI², Sekiya EJ², Alves A²

¹ Hemomed Instituto de Oncologia e Hematologia

² Instituto de Ensino e Pesquisa São Lucas, São Paulo, SP

Introdução: O linfoma de zona marginal esplênico (LZME) é uma linfoproliferação de linfócitos B maduros. A manifestação clínica é caracterizada por esplenomegalia, fenômenos auto-ímmunes e linfocitose. É extremamente incomum o acometimento nodal como extranodal. **Objetivo:** O objetivo deste relato de caso é demonstrar a importância da biópsia no diagnóstico diferencial de nódulos pulmonares, e descrever a abordagem terapêutica nesta forma incomum de evolução do LZME. **Relato de Caso:** Paciente feminina, de 72 anos, com histórico de LZME admitida no hospital com quadro de tosse produtiva, dispnéia leve, fraqueza e emagrecimento. Antecedente: LZME em seguimento desde 2006 em outro serviço médico, com diagnóstico realizado pós esplenectomia em abril/2007 e recentemente foi submetida a 4 ciclos de R-CVP com resposta parcial. As sorologias para hepatite C, B e HIV eram negativas. O

perfil imunofenotípico dos linfócitos do baço como do sangue periférico no diagnóstico eram: CD20+ CD79+, IgM na superfície, CD5-, CD10-, CD23-, CD3- com baixa expressão de Ki67 (2 a 5% dos linfócitos). Na investigação, a tomografia de tórax apresentava nódulos pulmonares difusos. Após ser submetida à biópsia, foi concluído o diagnóstico de Linfoma MALT. Imuno-histoquímica: CD20 +, CD23 -, CD5-, CD10- BCL-2 +, KI-67 (2 a 5%) AE1AE3 +. Paciente apresentava adenomegalias cervicais (1,5 cm), axilares (2,0 cm) e retroperitoneais (1,5 a 2,0cm). Foi submetida inicialmente a 4 ciclos de R-CVP com boa resposta, com Hb: 13,5g/dl, Leuc: 6500/mm³, Seg: 3200/mm³, Linf: 1100/mm³, Pla: 235.000/mm³. Houve regressão das adenomegalias e melhora dos sintomas constitucionais, sem alteração do padrão radiológico pulmonar e pouca melhora dos sintomas de tosse e dispnéia leve. Mesmo com padrão hematológico estável, paciente evoluiu com piora do padrão radiológico e dos sintomas respiratórios. Optou-se por iniciar protocolo R-FCM. Após o 1º ciclo, paciente apresentou redução de 80 % das lesões pulmonares e evoluiu com neutropenia grau III, com recuperação tardia. Após realização do 2º ciclo com dose reduzida, paciente apresentava regressão completa das lesões pulmonares e melhora completa dos sintomas. **Discussão:** O LZME é uma doença rara que pode acometer pacientes acima de 50 anos, mas pode corresponder a casos que eram laudados como Leucemia Linfocítica Crônica com CD5-. Estudos sugerem que a infecção por hepatite C pode aumentar o risco de desenvolvimento deste linfoma. A presença de adenomegalias e infiltração extra nodal são incomuns. O curso clínico é normalmente indolente e responsivo à esplenectomia e imunoterapia, mas pouco responsivo à quimioterapia, podendo se transformar em linfoma de grandes células ou em outras neoplasias de linfócitos B. O acometimento pulmonar por Linfoma MALT corresponde a 14% das apresentações extra-nodais deste subtipo, se manifestando como infiltrado pulmonar e assintomático em 40% dos casos. Este caso mostra uma evolução atípica do LZME, com evolução após 5 anos de diagnóstico, na forma de nódulos pulmonares bilaterais confirmados através de biópsia como Linfoma MALT pulmonar. A paciente não apresentou resposta satisfatória à 1ª linha de tratamento, mas com remissão completa das lesões após o 2º ciclo de R-FCM, demonstrando que a apresentação pode ser sintomática e grave e se beneficiar com a utilização do protocolo R-FCM.

0538

Desafios no diagnóstico de linfoma angioimunoblástico: um relato de caso

Bastos FQ, Mariano LC, Colombo ES, Rassi AB, Nogueira AB, Siqueira S, Lage LA, Pereira J

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: O Linfoma Angioimunoblástico é o segundo mais frequente linfoma de células T periféricos. Esta neoplasia origina-se de células foliculares CD4 positivas. Acomete adultos na sexta década de vida, com predileção pelo sexo masculino. Os pacientes apresentam sintomas constitucionais, adenomegalias, hepatoesplenomegalia, rash cutâneo e fenômenos auto-ímmunes. **Achados morfológicos:** O achado característico linfoma T angioimunoblástico é a perda completa da arquitetura, usualmente com um infiltrado capsular e perinodal, poupando os seios periféricos. Frequentemente células bi ou multinucleadas que lembram células de Reed-Sternberg são identificadas, de forma que o diagnóstico diferencial com Linfoma de Hodgkin pode ser de difícil realização. **Objetivo:** Relatar as dificuldades relacionadas ao diagnóstico morfológico do Linfoma Angioimunoblástico. **Relato de Caso:** Paciente do sexo masculino, 56 anos, encaminhado ao serviço de Oncohematologia com história de adenomegalias múltiplas há 3 meses, acompanhadas de emagrecimento de 10Kg. Na avaliação inicial, trazia resultado de biópsia linfonodal cujo estudo imunohistoquímico mostrava: CD45+; CD3+; CD20+; CD30+; CD15+, EBV negativo;

EMA+, sugerindo, portanto, o diagnóstico de Linfoma de Hodgkin tipo Esclerose Nodular. A imunofenotipagem mostrou predomínio de células maduras, com presença de 11% de células CD3-/CD4+++/CD26+++, sugerindo a possibilidade de linfoproliferação T em fase circulante. A biópsia de medula óssea não mostrou infiltração linfomatosa. A revisão externa do material mostrou processo linfoproliferativo com expansão paracortical e moderada eosinofilia, corroborando o diagnóstico de Linfoma de Hodgkin Clássico, tipo esclerose nodular. Notou-se ainda que o material era exíguo, impossibilitando análises adicionais. Devido evolução do quadro optou-se por iniciar tratamento com protocolo ABVD. Mediante resposta clínica desfavorável optou-se por realizar nova biópsia ganglionar em abril de 2012. Dessa vez o diagnóstico foi compatível com Linfoma T Angioimunoblástico, porém, o paciente não apresentava condições clínicas para continuidade do tratamento. No mesmo mês o paciente evoluiu a óbito devido complicações de ordem respiratória. **Discussão:** O Linfoma Angioimunoblástico é o segundo mais frequente Linfoma de Células T periféricas. É um tumor de células foliculares T helpers, mas na verdade, as células não-neoplásicas representam o maior componente do tumor e da clínica. As manifestações da doença estão mais relacionada à desregulação imune e resposta inflamatória do que às complicações diretas do crescimento tumoral, suportando o conceito de uma disfunção imunológica paraneoplásica. O diagnóstico deve ser realizado pela biópsia excisional do gânglio. Contudo, o diagnóstico anátomo-patológico pode ser um desafio, visto que as características desta linfoproliferação podem confundir-se com outras entidades. Frequentemente células bi ou multinucleadas que lembram células de Reed-Sternberg são identificadas, de forma que o diagnóstico diferencial com Linfoma de Hodgkin pode ser de difícil realização. **Conclusão:** Técnicas de imunohistoquímica, biologia molecular e principalmente a opinião de hematopatologistas experientes devem ser somadas na elucidação destes casos tão complexos.

0539

Quimioterapia associada a bortezomib em pacientes com linfoma não Hodgkin refratário subtipo células B ativadas: relato de 2 casos

Giacon PP, Barreto WG, Falopa V, Russo R, Oliveira JS

Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP

Introdução: O diagnóstico de LNH-DGCB atualmente é histológico. Porém o perfil molecular tem revelado heterogeneidade nessa categoria, subdividindo-se em três subtipos: o de células B de centro germinativo (GCB); de células B ativadas (ABC); e o Não Classificado (tipo 3). A variante ABC caracteriza-se por ativação da via do fator anti-apoptótico NFκβ, que inibe a ação do quimioterápico, o que pode explicar menor sobrevida pós-quimioterapia convencional (RCHOP) nessa categoria. Baseado neste fato, foi proposto associação ao esquema terapêutico de uma droga inibidora de proteosoma (bortezomib), que age no bloqueio do fator NFκβ, melhorando a resposta aos quimioterápicos em estudos controlados em andamento. Neste trabalho relatamos 02 casos de LNH DGCB-ABC, tratados com Bortezomibe associado a quimioterapia, refratários à terapêutica convencional. **Relato de Caso:** Paciente 1, L.C.G, 47 anos, masculino, diagnóstico de LNH-DGCB, CHOP e DHAP refratários. Realizou protocolo ICE e foi submetido a TMO autólogo. Apresentou recaída seis anos após com nódulo em dorso. Recebeu 6 ciclos de R-PROMACE com remissão completa (PET-CT negativo). Nova recaída em 10 meses, com lesões em dorso e membros inferiores, então biopsiado (IHQ: CD10-, BCL6-, MUM1+ sugestivo do subtipo ABC). Optado por DA-EPOCH associado a Bortezomib. Atualmente pós 8º ciclo com remissão completa. Sem doador HLA compatível até o presente momento. Paciente 2, R.F.B., 76 anos, feminino, diagnóstico de LNH-DGCB, estadiamento II xB IPI2. Submetido a 6 RCHOP e radioterapia cervical. Apresentou re-

caída precoce 14 meses depois. Submetido a 8 RCEOP, evoluindo com nova recaída bulky cervical 17 meses após, com IHQ da biópsia cervical (IHQ: CD10-, BCL6-, MUM1+ sugestivo do subtipo ABC). Optado por PROMACE associado a Bortezomib. Atualmente pós 5º ciclo mantendo resposta completa. **Discussão:** Pacientes com LNH DGCB subtipo ABC recém diagnosticados possuem pior sobrevida em relação ao subtipo GCB, quando tratados com terapia convencional a base de antracíclico (CHOP), associados ou não ao rituximab. Até o momento, estudos clínicos de novas estratégias terapêuticas em LNH DGCB não incluíram o perfil de expressão gênica e, portanto, não podem determinar se a terapia pode ter uma atividade preferencial em um particular subtipo de LNH DGCB. O perfil imunohistoquímico pode ser utilizado para determinar os subtipos ABC e GCB e implica em preditor de sobrevida, semelhante à técnica de cDNA microarray. Nos dois casos acima apresentados o perfil IMQ é compatível com subtipo ABC e, após refratariedade à terapia convencional, foram tratados com bortezomib associado a QT com boa resposta.

0540

Avaliação clínico-epidemiológica dos pacientes com leucemias agudas na unidade de oncologia de Roraima

Siqueira RS¹, Martin CN², Fonseca AJ², Morais IS¹, Benetta AD², Pires L²

¹ Universidade Federal De Roraima – UFRR, Boa Vista, RR

² Unidade De Oncologia De Roraima – UNACON, Boa Vista, RR

Introdução: As leucemias correspondem a um grupo de neoplasias proliferativas clonais de células imaturas do sistema hematopoiético. São classificadas pelo tipo celular em linfóides (LLA) ou mielóide (LMA) e subdividas de acordo com o tempo de evolução em agudas e crônicas. Roraima é um estado isolado geograficamente, com recursos financeiros escassos e uma população heterogênea (imigrantes venezuelanos, guianenses, nordestinos, além de importante quantitativo indígena). Somente após a criação do primeiro serviço de oncologia no estado em 2008 foi possível tratar esses pacientes na sua localidade de origem. De acordo com o INCA a incidência esperada para o estado varia de 1,45 a 2,68 por 100.000 habitantes/ano. **Objetivos:** Descrever o perfil clínico-epidemiológico e estimar a incidência dos casos de leucemias agudas diagnosticados no Serviço de Oncologia de Roraima (UNACON/RR). **Métodos:** Estudo retrospectivo, observacional, descritivo e transversal com coleta das informações dos prontuários de pacientes com diagnóstico de leucemia aguda no período entre 01 de julho de 2008 e 30 de junho de 2011. **Resultados:** Foram diagnosticados 14 casos no período, incidência de 1,1 casos por 100.000 habitantes/ano. Nos 06 casos de LLA: idade média de 22,8 anos, com 5 (83%) pacientes do sexo masculino e 4 (67%) se consideravam não brancos. Três (50%) pacientes possuíam bom PS ao diagnóstico (0-2), 5 (83%) apresentavam acometimento ganglionar e 3 (50%) apresentavam hepatomegalia e massa ganglionar maior que 10 cm (bulky). A leucemia na admissão apresentou uma média de 47 mil leucócitos. Dois casos apresentavam infiltração de SNC e apesar de acesso a exames diagnósticos, tratamento de suporte e quimioterapia de indução (protocolos BFM e GMALL), 5 pacientes (83%) foram a óbito durante os primeiros 45 dias de tratamento (todos classificados como alto risco). Nos 08 casos da LMA: idade média de 50,2 anos, com 4 (50%) pacientes do sexo masculino e não brancos. Seis (75%) pacientes possuíam bom PS (0-2) e 7 (87,5%) apresentavam sintomas B. Quanto ao subtipo: 3 (37,5%) M2, 3 (37,5%) M5, 2 (25%) aspirado seco e diagnóstico por imunohistoquímica. Citogenética não conseguiu metafases em 7 (87,5%) casos. Cinco casos foram a óbito (2 nas primeiras 24h de internação e 3 por infecção durante a fase de aplasia). Dois casos seguem em remissão e um terceiro paciente foi submetido a exitoso TMO alógeno. **Conclusão:** Apesar da pequena amostra, os Resultados são relevan-

tes por representarem o total de leucemias agudas em adultos em Roraima, com valores abaixo do estimado pelo INCA. Maior tempo de avaliação é necessário para definir curva de sobrevivência. Todos os pacientes tiveram acesso a Métodos diagnósticos, suporte clínico/transfusional e quimioterapia, entretanto a gravidade na chegada de alguns casos comprometeram a evolução.

0541

Linfoma primário de testículo: relato de caso

Centrone RT¹, Matos JL¹, Dias DF¹, Santucci R¹, Kuhn TI², Sekiya EJ², Alves A²

¹ Hemomed Instituto de Oncologia e Hematologia

² Instituto de Ensino e Pesquisa São Lucas, São Paulo, SP

Introdução: Linfoma Não – Hodgkin (LNH) primário de testículo é uma doença rara que corresponde a 1 % de todos os LNH, 5 % de todas as neoplasias de testículos e 85% são do subtipo difuso de grandes células B. A média de idade dos pacientes é de 29 a 78 anos, sendo mais comum entre 60 e 80 anos. O comprometimento bilateral ocorre em cerca de 8 a 38% dos pacientes e tem acometimento extra-nodal, incluindo SNC, pele, pulmão, anel de Waldeyer, tecido celular subcutâneo e olhos. **Objetivo:** Descrever caso de um paciente com LNH de testículo e revisão de literatura.

Relato de Caso: Paciente de 47 anos com queixa de dor e aumento do volume testicular há 8 meses, apresenta emagrecimento progressivo, tumoração em face, membro superior direito e ombro há cerca de 1 mês. Ao exame físico, apresentava edema e endurecimento dos testículos, tumoração em topografia de seio maxilar à direita com edema local. Os dados radiológicos mostraram nódulos nos testículos bilateralmente, tumoração de 3,5 x 3,5cm causando erosão óssea de seio maxilar, assoalho da órbita, etmóide e frontal à direita sem comprometimento do globo ocular e nervo óptico. A cintilografia óssea evidenciou captação em região frontal e maxilar direito, ulna e rádio direito, porção distal de fêmures, tíbias e ossos do tarso. Biópsia de medula óssea negativa, nível de β -HCG e alfa feto proteína normais e o DHL aumentado. Os materiais de biópsias do testículo e da tumoração do ombro direito confirmaram o diagnóstico de LNH difuso de grandes células B. O exame imuno-histoquímico CD 20 POS / CD5 FOCAL/ KI-67-90 %; BCL-2 POS – as células de interesse foram negativas para CD23, CICLINA D1 e CD30. O paciente foi classificado como Ann Arbor- IVB. O IPI foi de alto-risco (estadio IV, DHL elevado, mais de um sítio extra-nodal e ECOG-2). O paciente foi submetido à orquiectomia bilateral e colocação de prótese e encontra-se em tratamento com protocolo R-CHOP. **Discussão:** LNH primário de testículo é uma doença rara e agressiva que normalmente tem acometimento extra-nodal em sítios não usuais, como em SNC. The International Extranodal Lymphoma Study Group fez uma avaliação retrospectiva de 373 pacientes com LNH de testículo, de 21 instituições tratados com diversas terapêuticas, sendo a grande maioria, com estadio I e II, em um *follow-up* de 5 anos. A sobrevivência global foi de 81% e a sobrevivência livre de doença de 68%. Em um seguimento de 8 anos deste mesmo estudo, 52 % tinham recaído, com frequência em SNC e no testículo contra-lateral. Os pacientes com IPI de alto risco, mais de um sítio extra-nodal e comprometimento bilateral ao diagnóstico tiveram evolução desfavorável. Em outra revisão, a taxa de recaída foi alta mesmo nos casos de estadio I ao diagnóstico, com 60% de óbitos pela doença em um seguimento de 2,8 anos, com 51% dos pacientes apresentando recaída somente em sítios extra-nodais, confirmados em outras revisões. Desta forma, nosso paciente tem um prognóstico bem desfavorável devido ao comportamento agressivo. Mesmo os pacientes com estágio I são tratados com esquema quimioterápico contendo doxorubicina e anticorpo monoclonal anti-CD20 e não somente tratamento locorregional com cirurgia e radioterapia. A alta prevalência de acometimento em SNC remete à Discussão

sobre a utilização de profilaxia de rotina nos esquemas terapêuticos. Estudos prospectivos são necessários para determinar o melhor esquema terapêutico.

0542

Análise do perfil epidemiológico dos pacientes com diagnóstico de linfoma não-Hodgkin em hospital de referência no Agreste Paraibano

Grisi RM, Canuto AM, Carvalho CA, Guerra GI, Lima KG, Saraiva LR, Pereira LPJ, Siqueira MB, Tavares SF

Hospital Da Fundação Assistencial Da Paraiba, Campina Grande, PB

Introdução: Estudo realizado em hospital de referência em tratamento do câncer no interior da Paraíba, a fim de se conhecer o perfil epidemiológico e a classificação anatomopatológica dos pacientes com diagnóstico de linfoma não Hodgkin (LNH). **Métodos:** Realizamos estudo retrospectivo de todos os casos novos de linfoma não Hodgkin registrado no hospital da FAP no período 2002 a 2011, através de coleta padronizada de dados nos prontuários, sendo posteriormente submetidos a análises descritiva e analítica. **Resultados:** Do total de 41 prontuários revisados, 41,46% eram do sexo feminino e 58,53% do sexo masculino, com idade média de 58,14 anos. As neoplasias de células B predominaram representando 95, 1% dos pacientes analisados, sendo o subtipo mais prevalente o difuso de grandes células B. Os linfomas de linhagem T representaram 4,9%. A análise imunohistoquímica mostrou que 92,68% dos tumores apresentavam CD20 positivo. O principal regime quimioterápico foi o RCHOP seguido do CHOP. Os linfonodos cervicais foram o sítio anatômico mais acometido. Radioterapia adjuvante foi prescrita para 8 pacientes. **Conclusão:** Nos pacientes adultos com LNH, a distribuição por subtipos e as características da população foram semelhantes à encontrada na literatura. Observamos que em todos os pacientes foi realizada análise imunohistoquímica do material histopatológico, já sorologia por não ser realizada no hospital, não foi evidenciada. Houve boa resposta ao tratamento com 93% dos pacientes em seguimento enquanto 12% foram a óbito.

0543

Avaliação clínico-epidemiológica dos pacientes com linfoma não-Hodgkin na unidade de oncologia de Roraima

Siqueira RS¹, Martin CN², Fonseca AJ², Morais IS¹, Murari RS¹, Carvalho RV¹, Silva HB¹

¹ Universidade Federal De Roraima – UFRR, Boa Vista, RR

² Unidade De Oncologia De Roraima – UNACON, Boa Vista, RR

Introdução: O Linfoma Não-Hodgkin (LNH) é a quarta neoplasia mais incidente nos Estados Unidos, excluindo o câncer de pele não-melanoma, sendo responsável por 4% de todas as malignidades. No Brasil, as informações sobre a epidemiologia e o comportamento do LNH são escassas. Roraima é um estado isolado geograficamente, com recursos financeiros limitados e uma população heterogênea (imigrantes venezuelanos, guianenses, nordestinos, além de importante quantitativo indígena). Somente após a criação do primeiro serviço de oncologia no estado, em 2008, foi possível tratar esses pacientes na sua localidade de origem. **Objetivo:** Descrever o perfil clínico-epidemiológico e estimar a incidência dos casos de LNH diagnosticados no Serviço de Oncologia de Roraima. **Métodos:** Estudo retrospectivo, observacional, descritivo e transversal com coleta das informações de todos os prontuários de pacientes com diagnóstico de LNH no período entre 01 de julho de 2008 e 30 de junho de 2011. **Resultados:** O levantamento obteve 29 casos de

LNH, correspondendo a 38,6% das neoplasias hematológicas diagnosticadas no serviço. A incidência para o estado foi de 2.41 casos por cem mil habitantes/ano. Ao traçarmos o perfil destes pacientes, obtivemos que dos 29 casos de LNH analisados, 18 (62%) eram de alto grau. Em relação aos linfomas de alto grau, 14 (78%) pacientes tinham idade inferior a 60 anos (média: 42,9 anos), 10 (56%) eram do sexo masculino, 11 (61%) se declaravam não-brancos, 17 (94%) apresentavam *Performance Status* bom (PS: 0-2) ao diagnóstico e todos foram submetidos a terapias de primeira linha, com 6 (33%) óbitos ao final do período analisado. Ao analisarmos os linfomas de baixo grau, estes totalizaram 11 casos, com média de idade de 62,7 anos, 6 (54,5%) eram do sexo masculino, 6 (54,5%) não-brancos, 10 (91%) apresentavam *Performance Status* bom e em todos os casos foi realizado tratamento de primeira linha, não ocorrendo óbitos até o término do estudo. **Conclusões:** Somente em 2012, o INCA passou a incluir em suas estimativas o LNH. Para o Brasil, em 2012, esperam-se 5.190 casos novos dessa neoplasia em homens e 4.450 em mulheres, enquanto que, para Roraima são esperados menos de 15 casos de LNH em adultos, para ambos os sexos. Nesse contexto, nossos Resultados representam o total de pacientes diagnosticados com essa neoplasia, em maiores de 12 anos, em Roraima no período analisado. Desse modo, é possível traçar a incidência e o perfil epidemiológico dessa neoplasia no estado, além de constatar que apesar do isolamento geográfico e da limitação de recursos materiais e humanos, a maioria dos pacientes recebeu diagnóstico em estágios precoces e teve acesso a terapias consideradas de primeira linha por protocolos nacionais e estrangeiros. O pequeno número da amostra não permite avaliações estatísticas e um tempo maior de acompanhamento é necessário para avaliar curva de sobrevida e recaídas.

0544

Linfoma primário de sistema nervoso central após transplante renal: relato de um caso

Luis L, Nucci F, Gabriel A, Orlando E, Pataro L, Mercante D, Oviedo C, Campos J, Pires A, Praxedes M

Hospital Universitário Antonio Pedro, Universidade Federal Fluminense – UFF, Niterói, RJ

Introdução: Os transplantes de órgãos (TOS) sólidos possibilitam melhor sobrevida e qualidade de vida para pacientes com disfunções terminais. Entretanto, a imunossupressão necessária para a manutenção do enxerto está associada a complicações que podem comprometer a expectativa de vida dos pacientes. As neoplasias malignas representam 30% das mortes dos transplantados renais e o linfoma não Hodgkin é a segunda neoplasia maligna mais observada. Os linfomas dos transplantados diferem daqueles dos imunocompetentes, por serem induzidos por vírus, o Epstein Barr vírus (EBV), pela resposta potencial à redução da imunossupressão e pela localização extra-nodal. **Relato de Caso:** Paciente, masculino, pardo, 37 anos, renal crônico transplantado há 14 anos, desde então em uso de imunossupressão composta por rapamicina, micofenolato mofetil e prednisona. Em agosto de 2011 passou a se queixar de cefaléia recorrente, de forte intensidade, associada à letargia e à perda ponderal de 4 kg. A tomografia computadorizada (TC) do SNC mostrou uma massa tumoral subcortical, que foi submetida a uma ressecção, com diagnóstico de Linfoma Não Hodgkin de grandes células B difuso (LGBD) e estudo imunohistoquímico positivo para anti CD20, EBV e Ki 67(>75%), e negativo para anti CD3 e BCL6. O paciente foi estadiado como IE e tratado, de novembro de 2011 até agosto de 2012, com altas doses de Methotrexate, associado ao anticorpo monoclonal anti CD20, o Rituximabe. Houve boa evolução e as TCs de controle, foram normais. **Discussão:** As doenças linfoproliferativas pós-transplante (DLPT) são um grupo heterogêneo de doenças, potencialmente fatais, conseqüentes aos TOS e mais raramente aos

transplantes de medula óssea. O espectro patológico das DLPT varia desde uma hiperplasia linfóide benigna até Linfomas agressivos, em sua maioria de células B. A ocorrência dos linfomas é de 20-120% mais elevada nos pacientes submetidos aos TOS e o risco é mais alto naqueles pacientes que necessitam de maior imunossupressão, como nos transplantes de coração, pulmão e multiórgãos, com incidência de 20-25%. Os transplantes renais e hepáticos tem risco menor, de 1-5%. Os principais fatores de risco para as DLPT são a imunossupressão, a infecção pelo EBV, a coinfeção por outros vírus, além da suscetibilidade genética. O risco de desenvolvimento de DLPT é maior no primeiro ano após o transplante, mas séries mais recentes relatam inícios mais tardios, nos quais predominam os casos EBV negativos. Os casos de DLPT de SNC são raros, mas tendem a crescer com o aumento do número de transplantes, particularmente os renais. Eles ocorrem mais tardiamente do que os das outras localizações, geralmente após 10 anos do transplante e quase que a totalidade dos casos de Linfomas primários do SNC é do tipo LGBD. O tratamento desta doença não está bem definido e varia de acordo com fatores como risco de rejeição do enxerto, existência de comorbidades e a forma de apresentação da doença. Nós apresentamos um caso de linfoma primário de SNC, secundário a um transplante renal, de início tardio, relacionado à infecção pelo EBV. Após a redução da imunossupressão e a realização de oito ciclos de quimioterapia, o paciente encontra-se em remissão completa, sem prejuízo para o enxerto renal. Os trabalhos recentes sugerem que o uso precoce do Rituximabe, está relacionado a uma melhor sobrevida e que as recaídas são raras após um ano do fim do tratamento.

0545

Tratamento do linfoma de Burkitt intra-orbitário com o protocolo HYPER-CVAD: relato de caso

Sabioni B, Santos B, Urago K, Magalhaes R, Portugal RD

Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

O linfoma de Burkitt (LB) é um tipo agressivo de linfoma não Hodgkin de células B, de crescimento rápido, que pode estar relacionado à imunodepressão, particularmente comum em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), sendo considerada doença definidora da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA/AIDS). O LB relacionado ao HIV/AIDS representa um desafio terapêutico, principalmente devido à toxicidade envolvida nos intensos regimes de tratamento, com elevado grau de imunossupressão. Relatamos o caso de um paciente de 45 anos, sexo masculino, sabidamente portador de HIV desde 1999 com controle virêmico insatisfatório, que iniciou quadro de mononeurite múltipla inflamatória, com ampla investigação neurológica não elucidativa. Um ano após, evoluiu com proptose à esquerda, com exames de imagem do crânio evidenciando lesão expansiva retro e intra orbitária à esquerda, com espessamento do seio cavernoso ipsilateral. O exame histopatológico revelou infiltração por linfócitos de tamanho intermediário, com pequenos nucléolos evidentes, marcação positiva com os anticorpos anti CD20, bcl2 focal e fraco e elevado índice mitótico (Ki-67 100%), sendo então firmado diagnóstico de LB. No estadiamento não foi notada lesão fora da órbita. Iniciado tratamento com protocolo Hyper-CVAD com regressão do globo ocular para posição anômica. Poucos dias antes do início do terceiro bloco do Hyper-CVAD, houve proptose do globo ocular contralateral, com exames de imagem mostrando edema de musculatura retro orbitária à direita. Realizada continuidade do tratamento em curso, observando-se regressão das lesões oculares. O paciente ainda se encontra em tratamento com o referido protocolo. Apesar da grande dificuldade de tratamento do LB no paciente portador do HIV, sobretudo quando associado à invasão do sistema nervoso central ou órbita, o protocolo Hyper-CVAD pode ser uma opção terapêutica com toxicidade e eficácia aceitáveis.

0546

Pro-angiogenic Mir-296 is frequently overexpressed and is associated with advanced stage disease in diffuse large B-cell lymphoma

Borges NM¹, Conti ML¹, Andrade TA¹, Macedo MP², Begnami MD², Alves AC¹, Colleoni GW¹

¹ Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

² Hospital do Câncer AC Camargo – HACC, São Paulo, SP

Introduction: MicroRNAs (miRNAs) are a class of endogenous short non-coding RNAs that control gene expression by acting on target mRNAs for promoting either their degradation or translational repression. Some of them have involvement in regulating various aspects of angiogenesis, including proliferation, migration and morphogenesis of endothelial cells, which are important in regulating cardiovascular *development* and cancer. The term “angiomiR” is used to define the miRNAs that control angiogenesis. They are classified into pro-angiomiRs, those that promote angiogenesis, and anti-angiomiRs, those that inhibit angiogenesis. The identification of angiomiRs as the key to regulating angiogenesis has opened new paths in the treatment of vascular and oncology diseases. **Aims:** This study aims to analyze the expression angiomiRs in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and to correlate them with clinical and histological features to identify possible biomarkers and prognostic factors. **Methods:** We studied 93 samples of *de novo* DLBCL diagnosed between 2000 and 2010. All the cases were HIV-negative. MicroRNAs were obtained from paraffin embedded tumor samples using *RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE Tissues* (Applied Biosystems). Four angiomiRs (miR-378, miR-296, miR-210 and miR-126) were analyzed. RNU44 and U18 were used as endogenous controls for quantitative PCR (*TaqMan® Small RNA Assays*). We set a threshold of a 1.5-fold difference in angiomiRs expression compared to controls (palatine tonsil). **Results:** miR-378, miR-296, miR-210 and miR-126 overexpression were observed in 43%, 47%, 22% and 5%, respectively. Considering that miR-378 and miR-296 were frequently overexpressed in DLBCL, we further analyzed the following variables: age (≤ 60 versus > 60 years), Ann Arbor Staging System (I-II versus III-IV), International Prognostic Index (0-2 versus 3-5), DLBCL classification (NOS versus subtypes), tumor origin according to Hans (2004) algorithm (GCB versus non-GCB). We observed higher median miR-296 expression in DLBCL classified as stage III-IV ($p = 0.0415$, Mann-Whitney). For the other variables, we did not find any statistically significant difference between groups. **Conclusions:** miR-296, that directly decreased the levels of hepatocyte-growth factor regulated tyrosine kinase substrate (HGS) and indirectly upregulate VEGFR2 and PDGFR β , was overexpressed in almost 50% of *de novo* DLBCL and was associated with advanced stage disease. Our study brings new information about the role of microRNA importance in DLBCL *development* and can be explored as prognostic and therapeutic target for patients suffering from this prevalent malignancy (Supported by FAPESP 2010/17668-6).

0547

Radioterapia em lesões refratárias de micose fungoide: relato de caso

Siqueira DB¹, Atalla A², Ferreira AS²

¹ Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde – Suprema, Juiz de Fora

² Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG

Introdução: Há na literatura médica a descrição de diversos tratamentos tópicos e sistêmicos para micose fungoide (MF); no entanto, apesar de indolente, este linfoma cutâneo de células T (LCCT) permanece incurável. Os LCCT são altamente radiosensíveis e por isso a terapia de radiação desempenha um papel importante no manejo de muitos pacientes com MF. **Objetivo:** Relatar o benefício clínico da radioterapia em paciente submetida à radioterapia de duas extensas áreas acometidas por MF. **Relato de Caso:** Paciente de 46 anos, sexo feminino, branca, com diagnóstico de MF desde 2008. Tratamentos prévios com corticoides tóxico e sistêmico, quimioterapia, interferon subcutâneo e gemcitabina. Encaminhada para radioterapia devido à presença de placas resistentes aos tratamentos, de grandes dimensões, eritematosas, ulceradas e pruriginosas; localizadas em dorso esquerdo com extensão para mama ipsilateral e região inguinal direita. Foram aplicados 36Gy em 20 frações com elétrons de 9MeV, com dose/fração dia de 1,8Gy 5 dias na semana. Ao fim do tratamento apresentou descamação, eritema e ulceração em áreas irradiadas. Após três meses de evolução houve remissão completa e a paciente encontra-se sem evidência clínica da doença. **Discussão:** Os tratamentos disponíveis para MF são, muitas vezes, insuficientes para o controle local e com elevadas taxas de recidiva. Muitos dos pacientes evoluem com lesões desfigurantes, dolorosas, pruriginosas, frequentemente acometidas por infecção secundária e com alta morbidade. A irradiação total com elétrons pode ser utilizada em pacientes amplamente acometidos, assim como uma abordagem direcionada para aqueles com lesões localizadas. Ambas as formas proporcionam prolongado período de remissão com impacto importante na qualidade de vida destes pacientes. **Conclusão:** A radioterapia proporciona um efetivo tratamento paliativo em pacientes com lesões refratárias de MF. As doses utilizadas devem ser de 10 a 36Gy e preferencialmente fracionadas.

0548

Uso do PET-CT em paciente com linfoma cutâneo primário de células T?

Rassi AB, Bellesso M, Costa RO, Diz MD, Md CEB, Coura-Filho GB, Sanches JA, Lage LA, Colombo ES, Pereira J

Instituto do Câncer do estado de São Paulo – ICESP, São Paulo, SP

Introdução: O linfoma cutâneo primário de células T $\gamma\delta$, é uma doença extremamente rara que responde por apenas 1% de todos linfomas cutâneos de células T. Os pacientes normalmente se apresentam com placas ou pápulas, com frequente necrose da epiderme e ulceração. A maioria dos pacientes apresenta sintomas B. Devido à baixa resposta da doença à quimioterapia e radioterapia o prognóstico é ruim, com uma sobrevida média de 15 meses. Por tratar-se de doença rara, existem poucos estudos definindo as melhores opções diagnósticas e terapêuticas para estes casos. **Objetivo:** Avaliar a segurança do Positron emission tomography/computed tomography (PET/CT) para diagnóstico e seguimento em um paciente com diagnóstico de Linfoma cutâneo primário de células T $\gamma\delta$. **Relato de Caso:** Paciente do sexo masculino, de 28 anos, apresentou por 2 meses quadro de febre, sudorese e nódulos subcutâneos no abdome, tórax, axila e face. Quando chegou ao nosso serviço foram observadas também hepatoesplenomegalia e placas enegrecidas nos membros. O paciente foi submetido à biópsia de subcutâneo, que revelou infiltrado de linfócitos atípicos, cercando adipócitos, em meio a apoptoses e mitoses. Análise por imunohistoquímica mostrou: CD3+; CD4+; CD8+; Granzima B+; Ki-67 alto índice; CD20-; CD30-; CD56-; EBV -; TCR gamma +; TCR beta -. Concluiu-se por Linfoma Cutâneo Primário de Células T $\gamma\delta$. Com objetivo de estadiamento da doença, foi realizado 18F-FDG PET/CT. O exame mostrou alta captação de fluorodeoxiglicose (FDG) em diversos nódulos subcutâneos, principalmente na transição cervico torácica, nas paredes torácicas anterior e posterior, abdome e membros. Após 4 ciclos de CHOEP, o paciente

permaneceu assintomático e o PET/CT mostrou resposta completa em todos sítios de captação prévios. Durante o último ciclo de indução o paciente queixou-se de febre, sudorese, hiperemia facial e no couro cabeludo. Decidiu-se então por solicitar novo PET-CT que mostrou progressão de doença com captação importante de FDG no couro cabeludo, região cervical, axila direita e linfonodos mesentéricos e retroperitoneais. Optado por prescrever quimioterapia de resgate com Magrath Modificado com IVAC e ciclosporina (CSA). O paciente atingiu novamente remissão completa após o segundo ciclo, confirmado pelo PET/CT e foi, então, encaminhado para realização Auto-TCTH como consolidação. Após quatro meses de realização do transplante o paciente apresentou esplenomegalia, pancitopenia, hiperferritinemia e hipertrigliceridemia. No aspirado medula foram encontradas figuras de hemofagocitose e excluídas causas infecciosas. Encontrado, também, infiltrado por linfócitos T com monoclonalidade do TCR definida por PCR. PET/CT demonstrou intensa captação por FDG no fígado e no baço. Definida, então, recaída precoce pós TCTH e paciente foi tratado com prednisolona, ciclosporina e filgrastim. Após seis meses, ele está assintomático com CSA 300mg/dia. **Conclusão:** Este caso demonstra como PET/CT pode ser considerado uma ferramenta confiável durante todas as fases do acompanhamento do doente, tais como estadiamento, avaliação de resposta e seguimento. É importante que outros estudos busquem determinar o real impacto do PET/CT no manejo desta doença.

0549

Linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B leg type: relato de um caso

Abdo AN, Yamakawa PE, Lage LA, Pereira J

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: O linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B (LNHDGCB) Leg Type é uma neoplasia linfóide B madura rara que corresponde a cerca de 4% dos linfomas primários cutâneos. A doença possui como características clínicas marcantes o acometimento predominante de indivíduos idosos, o envolvimento das pernas em 80% dos casos, fenótipo tipo células B ativadas, alta agressividade e taxa de recidiva elevada, além de sobrevida global estreita, quando comparado a outros LNH, girando em torno de 50% em 5 anos a despeito da melhor terapêutica empregada. **Objetivo:** Relatar o caso de paciente diagnosticado com LNHDGCB Leg Type em Remissão Completa sustentada após tratamento com poliquimioterapia. **Relato de Caso:** Paciente masculino de 64 anos, história de lesão ulcerativa e vegetante em região tibial anterior da perna esquerda com evolução progressiva há 04 meses, sem outros sintomas associados. Em 15/10/12 deu entrada no PS do nosso serviço com anasarca, anúrico há 24h. Exames iniciais revelaram quadro compatível com Insuficiência Renal Aguda secundária a lise tumoral espontânea (creatinina 2,8 mg/dL, ureia 150, ácido úrico 12,4 mg/dL, DHL 3640, K 6,9 mEq/L). Após medidas iniciais para lise tumoral e conduta nefrológica conservadora o paciente apresentou discreta melhora. Nesse ínterim a biópsia da lesão na perna revelou LNHDGCB pós centro germinativo (CD10-, BCL6- e MUM-1/IRF-4+) Leg Type. Ao estadiamento o paciente possuía R-IP1 4 (>60 anos, ECOG 3, EC IV, DHL elevado), tomografias computadorizadas com múltiplas linfonodomegalias abdominais e conglomerados ganglionares em cadeia ilíaca esquerda medindo 8,5cm x 8,0cm e inguinais esquerda com até 10 cm no maior eixo. O PET-CT mostrou além destas alterações, aumento do metabolismo glicolítico em múltiplos nódulos subcutâneos e lesão heterogênea e exofítica em face medial da perna esquerda, sendo classificado como estágio clínico de Ann Arbor/Cotswolds IVXA. Iniciado tratamento citorrredutor com dose reduzida de ciclofosfamida e vincristina e 7 dias após foi realizado 1º ciclo de R-CHOP (com dose de 75%). Após resolução de neutrope-

nia febril de foco na lesão ulcerada em questão com antibioticoterapia de largo espectro, reversão da disfunção renal com medidas clínicas e melhora clínica com redução importante da lesão após terapia citotóxica, o paciente recebeu alta hospitalar 30 dias após sua internação. Em nível ambulatorial foram realizados mais 7 ciclos de R-CHOP (com dose plena) e na reavaliação após 8º ciclo o PET-CT demonstrava desaparecimento das captações em cadeias linfonodais abdominais e inguinais, porém ainda persistia captação em face medial da perna esquerda (porém com redução de SUV de 7,7 inicial para 4,9 atual). A biópsia da lesão captante residual mostrou ausência de neoplasia e compatível com borda de úlcera reparada. Atualmente o paciente encontra-se em remissão completa e seguimento ambulatorial bimestral. **Conclusão:** Apesar do prognóstico desfavorável da neoplasia em questão, dado predominantemente pelo padrão de assinatura gênica pós centro germinativo, bem como pelo estágio avançado e índice prognóstico ruim ao diagnóstico e das complicações clínicas iniciais o presente relato enfoca o sucesso da terapêutica com poliquimioterapia associado a imunoterapia com resposta excelente e remissão completa da doença na reavaliação pós final de tratamento.

0550

Linfoma não-Hodgkin difuso de grandes células B em segunda porção duodenal

Rodrigues TF, Manguiera FP, Bezerra AL, Pimenta FC, Neves FP, Cavalcanti LH

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, PB

Introdução: Os linfomas não-Hodgkin constituem um grupo heterogêneo de neoplasias malignas linfóides cuja incidência tem aumentado nas últimas décadas. O acometimento extranodal é bastante frequente, correspondente a 40% dos casos, sendo o trato gastrointestinal (TGI) o local mais comum e os os subtipos histológicos mais frequentes o Linfoma difuso de Grandes Células B (LNHDGCB) e o MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue)². No TGI, o órgão mais acometido é o estômago, constituindo 60% dos casos, seguido do duodeno (20%), válvula ileocecal (10%) e cólon(menos de 10%)². **Objetivos:** O objetivo do presente trabalho é relatar um caso de LNHDGCB acometendo a segunda porção do duodeno e demonstrar a importância do exame de imunohistoquímica no diagnóstico desta neoplasia. **Métodos:** Coleta e análise de informações coletadas a partir do prontuário médico. **Discussão:** G.C.B, 50 anos, natural e procedente de João Pessoa-PB, procurou serviço médico em maio de 2012 por queixa de epigastralgia pós-prandial há cerca de 6 meses, a qual teria se intensificado no último mês. Nesta ocasião, foi submetido a exames complementares para investigação diagnóstica. A ultrassonografia abdominal revelou múltiplas linfonodomegalias abdominais em cadeias peripancreáticas, da pequena curvatura gástrica, interaortocaval, periortica, comprimindo o corpo gástrico e lobo esquerdo do fígado. A endoscopia digestiva alta evidenciou uma lesão ulcerada profunda, redonda, com bordas finas, halo hiperêmico, medindo cerca de 2 cm de diâmetro, localizada na parede lateral do início da segunda porção do duodeno, imediatamente abaixo do ângulo duodenal superior, cuja biópsia caracterizou como carcinoma invasivo pouco diferenciado. A pesquisa para *Helicobacter Pylori* foi negativa. No entanto, à imunohistoquímica, detectou-se a presença do antígeno KI67 em 70% das células e positividade difusa para os marcadores CD10, CD20, CD45 e Bcl2, apresentando-se assim um diagnóstico compatível com Linfoma Não-Hodgkin Difuso de Grandes Células B em mucosa entérica. O CD5 e Ciclina D1 foram negativos, excluindo o diagnóstico de Linfoma do Manto (LM). O paciente foi então encaminhado ao Serviço de Hematologia do Hospital Napoleão Laureano, onde foram solicitados novos exames complementares para estadiamento. A Tomografia Abdominal evidenciou linfonodomegalia retroperitoneal e a biópsia

de medula demonstrou infiltração medular, caracterizando, desta forma, estadió IVA de acordo com o sistema Ann-Arbor. Após o diagnóstico foi então iniciado o tratamento quimioterápico com esquema R-CHOP. **Conclusão:** Considerando a inexistência de um padrão endoscópico característico do LNHDGCB que acometem o TGI e seus diagnósticos diferenciais como o carcinoma e outros linfomas com histologia semelhante, como o Linfoma de Células do Manto e o Linfoma Folicular, verifica-se a importância da realização da imuno-histoquímica para o correto diagnóstico desta neoplasia. Embora a histopatologia seja considerada padrão ouro para o diagnóstico, testes imunofenotípicos e/ou testes moleculares para detecção de monoclonalidade são recomendados para elucidação dos casos duvidosos.

0551

Granulomatose linfomatóide: relato de caso responsivo ao rituximabe

Vargas APML, Bigonha J, Justo AP, Franco MI, Figueiredo VL

Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo – IAMSPE, São Paulo, SP

Granulomatose Linfomatóide é uma desordem linfoproliferativa, rara, angiodestrutiva, com acometimento extranodal. É composta por clones de células B atípicas, positivas para a pesquisa do vírus Epstein-Barr, misturadas com células T reativas, inflamatórias. É mais comum em adultos e acomete mais homens que mulheres (2: 1). Pessoas com imunodeficiência subjacente são mais predispostas. O envolvimento pulmonar ocorre em mais de 90% dos casos, seguido por: cutâneo (25-50%), renal (32%), hepático (29%), SNC (26%). Raramente acomete trato gastrointestinal e respiratório, linfonodos e baço. Sinais e sintomas relacionados à afecção pulmonar são: tosse (58%), dispnéia (29%), dor torácica (13%). Sintomas constitucionais como febre, perda ponderal, mialgias, artralguas, podem estar presentes. A paciente M.R.S.M., 62 anos, natural de Sorocaba (SP), apresentou queixa inicial há 1 mês de dor torácica subcostal direita, ventilatória dependente e febre. Procurou atendimento médico em Sorocaba, realizou RX tórax que mostrou lesão em ápice pulmonar direito. Foi investigada para Tuberculose Pulmonar, pesquisa esta negativa. Fez CT tórax que evidenciou formação heterogênea com atenuação de partes moles no lobo superior pulmonar à direita com 8,5x4,5x6,0 cm, linfonodomegalia supraclavicular direita e nódulos hepáticos em lobo esquerdo. A biópsia pulmonar foi inconclusiva. Foi tratada com antibióticos. Sem apresentar melhora do quadro e sem diagnóstico, procurou nosso serviço, onde realizou biópsia de medula óssea que não mostrou comprometimento neoplásico; biópsia hepática sem alterações. Fez PET-CT: massa no sulco superior do pulmão direito medindo 5,8cm no maior diâmetro transversal, com intensa captação de FDG, sinais de invasão da parede do ápice do hemitórax direito. Há cavitação central da massa pulmonar que se comunica com o brônquio do segmento apical do lobo superior direito. Fez broncoscopia e como estava sem elucidação, realizou toracotomia com biópsia pulmonar e imunohistoquímica, sendo compatíveis com Granulomatose Linfomatóide Grau II. Após extensa revisão literária, vimos que, por se tratar de rara patologia, não há tratamento padrão. Recentemente, o Rituximabe tem sido uma opção racional, pois, a população de células neoplásicas é CD20 positivo. Segundo experiência dos autores Ki Hwan Jung e colaboradores, Tadasz Robak e colaboradores, A. Zaidi e colaboradores, optou-se por iniciar Rituximabe (375mg/m²) semanal, por 4 semanas; iniciado em outubro de 2011. Como a resposta foi notável, mantivemos uma dose de manutenção a cada dois meses. A paciente evoluiu bem, com regressão total do quadro pulmonar, em tratamento até o momento. Realizou CT de tórax em 04/04/2012 que não evidenciou anormalidades.

0552

90Y-ibritumomab treatment for relapsed and/or refractory B cell type non-Hodgkin's lymphoma: multi-institutional argentinian study - update

Cacchione R, Dupont J, Milone J, Bordone J, Riera L, Ardaiz M, Castro-Rios M, labstrebner M, Pombo G, Basso A, Avila G, Chiattone C, Tartas N, Garay G, Riveros D, Cerebrin L, Diaz A, Rudoy S, Argentiri D, Milone G, Fedeles J, Fantel D, Zopego L, Bezares F, Palmer L

Grupo Multiinstitucional del Tratamiento de Linfoma No Hodgkin con Radioinmunoterapia

Abstract: The radionucleid conjugate with monoclonal antibodies (antiCD20/90Y-ibritumomab tiuxetan) have been approved for the treatment of relapsed, refractory and transformed (high grade) follicular lymphomas. Between September 2005 and February 2012, 62 patients with refractory/relapsed lymphoma were enrolled. Median age was 61 yrs old (41-83). Thirty two were women and 30 were men. Forty eight were follicular, 6 were mantle cell lymphoma, 3 transformed and 5 diffuse large B cell lymphoma. Twenty five patients had bulky disease, 8 had bone marrow involvement and 27 had stage III-IV disease. Time from diagnosis was 0-3 years in 15 pts, 3-6 in 22 pts and over 6 years in 25 pts. The median prior regimens were 3 (2-5) including 8 pts with autologous bone marrow transplantation. All had previously received anti-CD20 monoclonal antibody therapy. Seven pts. received previous radiotherapy. 90Y-ibritumomab (Zevamab TM Bayer Argentina) was administered at 0,3 or 0,4 mCi, based on initial platelet count. Seven days before, and the same day of the immunoconjugate administration, pts received rituximab 250 mg/m². Forty nine pts responded, (31 CR, 18 PR). Eleven pts required filgrastim administration for neutropenia, 8 pts required platelet transfusions, 6 pts had neutropenia plus fever, 4 pts required red blood cells transfusion, and only 5 pts had to be admitted for complicated pancytopenia. Median follow up is 30 months (3-80). The estimated 72 months survival and progression free survival are 40% and 20% respectively. Our experience shows 50 % CR. Even heavily treated pts, that had previous bone marrow transplantation were able to receive the radioimmunoconjugate, although they required extra support.

0553

Linfoma de células T hepato-esplênico gama-delta: Relato de caso

Canuto DK, Endo VM, Graciteli T, Bortolheiro TC, Brasil SB

Santa Casa de Misericórdia de São Paulo – ISCSP, São Paulo, SP

Introdução: O Linfoma de células T periférico é um grupo heterogêneo de malignidades linfóides maduras, pós tímica, que representa, aproximadamente, 10 a 15% de todos os Linfomas Não-Hodgkin; Linfoma Hepato-esplênico Gama-delta (LHEGD) é uma rara entidade dentro deste grupo. As características clínicas são proliferação de células T malignas nos sinusóides hepáticos, polpa vermelha do baço e medula óssea (MO), com curso clínico agressivo e predominância em adultos jovens do sexo masculino. O imunofenótipo geralmente é CD2+, CD3+, CD4-, CD5+ ou -, CD7+ ou -, CD8-, CD16+ ou -, CD56+ ou -, com a expressão do receptor de células T gama-delta ou alfa-beta. Anormalidades citogenéticas associadas incluem isocromossomo 7q com ou sem a trissomia do 8. A maioria dos pacientes apresenta-se com hepatoesplenomegalia e sintomas sistêmicos; outras características como fadiga, icterícia devido ao envolvimento hepático e citopenias podem ocorrer. Linfonodopatia ocorre em poucos pacientes ao diagnóstico. Dez a 20% dos pacientes tem história prévia de imunodeficiência. O tratamento até o momento não tem sido eficaz, com sobrevida global mediana curta.

Métodos: Levantamento de prontuário, descrição e Discussão de relato de caso com breve revisão de literatura. **Resultados:** JCGS, 21 anos, masculino, previamente hígido, com história de emagrecimento, sudorese e aumento do volume abdominal há 6 meses. Há 5 meses foi internado em outro serviço onde realizou exames que evidenciaram DHL aumentada, sorologias para HIV e hepatites B e C negativas e hepato-esplenomegalia importante. Esplenectomia diagnóstica demonstrou baço com 3390g, extensas áreas de necrose, congestão de polpa vermelha com proliferação linfóide atípica. Transferido para o nosso serviço para elucidação diagnóstica. Realizados biópsia de medula óssea com imuno-histoquímica que sugeriu processo linfoproliferativo imunofenótipo T, e imunofenotipagem com CD2+, CD3+, CD5+, CD7+, receptor de célula T gama-delta+, CD56 e CD16 negativos. Não foi possível realizar estudo citogenético. Com os dados da biópsia do baço, MO, imunofenotipagem e história clínica, concluiu-se o caso como LHEGD. Iniciado tratamento com Hyper-CVAD, porém, logo após o primeiro ciclo, o paciente evoluiu com insuficiência respiratória e consequente óbito. **Conclusão:** O LHEGD é considerado como uma entidade distinta de linfoma, caracterizado pela expressão do receptor de célula T gama-delta e envolvimento primário do baço e do fígado. É extremamente agressivo, com prognóstico sombrio. Até o momento, os regimes de tratamento tem sido decepcionantes, com taxas de respostas variáveis, altas taxas de recaídas e sobrevida global mediana de apenas 8 meses. Em Conclusão, o LHEGD continua a ser uma doença rara, grave, com pouca experiência terapêutica na literatura e com elevada taxa de mortalidade, o que exige necessidade urgente de tratamento eficaz.

0554

An alternative CD20 transcript variant encoding a truncated protein is highly expressed in diffuse large B-cell lymphoma. a candidate biomarker for lack of clinical response to anti-CD20 monoclonal antibody therapy?

Miguez MV¹, Lozada MG², Goncalves NP¹, Segges P², Moraes AB¹, Scheliga A³, Zalcberg I⁴, Hassan R², Stefanoff CG¹

¹ Serviço de Pesquisa Clínica, CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Laboratório de Oncovirologia, CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Serviço de Oncologia Clínica, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

⁴ Laboratório de Biologia Molecular, CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

CD20 (MS4A1) is a non-glycosylated transmembrane phosphoprotein that is widely expressed throughout B-lymphocyte ontogeny, in normal or malignant B cells. CD20 expressed the cell surface of malignant B cells is a target for monoclonal antibody (mAb) therapy. Rituximab (RTX), the first FDA-approved mAb for clinical therapy, leads to CD20-expressing B-cells depletion through different mechanisms. Although its clinical effectiveness is evident, some factors, directly linked to CD20 gene expression (cell-surface expression level, mutations/deletions, epigenetic regulation or protein phosphorylation rate), may influence its clinical benefit and sometimes may lead to RTX resistance. Recently, a novel CD20 alternative mRNA was identified which encodes a truncated protein (lacking the extracellular domain, which includes the RTX epitope), directly correlated with RTX resistance in B-cell lymphomas. The aim of this study was to analyze the expression of these splice variant mRNA in B-cell lines and primary samples of B-cell lymphomas. Total RNA was extracted from malignant cell lines, peripheral blood mononuclear cells (PBMC, n=5) and primary tumor samples of follicular lymphoma (FL, n=23) and diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL, n=16) and was reverse-transcribed into cDNA

using ImProm-II™ Reverse Transcriptase. For conventional qualitative PCR, full-length (fl) and alternative (aCD20) cDNA amplification was performed using *primers* specific from the start (exon 3) and the stop codon (exon 8). Relative expression was determined separately by RT-qPCR for both transcripts using Taq-Man methodology with specific *primers* and a common dual-labeled FAM/TAMRA probe. The measurements were performed in duplicate with maximum SD of 0.20. HMBS gene was used as endogenous. Samples with Cq \geq 35 for the endogenous gene were excluded from analysis. Quantitation was performed by the ratio between the values 2-DCQ for each of the transcripts x100. In addition to the flCD20 transcript PCR products (894 bp), we detected aCD20 transcripts of PCR products (393 bp) in all screened malignant CD20+ cell lines (Raji, Namalwa, Bjab, Ramos, Daudi, Karpas-422 and HLB-2) but not in PBMC from healthy donors. Transcripts were not detected in T-cell (Jurkat and HTU-78), multiple myeloma (U266) and Hodgkin's lymphoma (KHM2, L1236, L540, L428) cell lines. In diagnosis tumor samples (lymph nodes) the quantification of aCD20 mRNA (mean \pm SE) showed a higher level in DLBCL (15.9%, IC 95% 4.76-27.05%) as compared with FL cases (0.58%, IC 95% 0.21-2.17%)(p < 0.001, Mann-Whitney test). Interestingly, when analyzed the aCD20 expression within the group of FL, cases diagnosed as grade III (n=7) had greater expression than cases I/II low-grade (n=16, p=0.01). Finally, RT-qPCR confirmed qualitative screening in which the spliced form was not detected in PBMCs from healthy donors (0.01-0.03%). In conclusion, we demonstrated an CD20 alternative mRNA in malignant B cells at different levels. Our data for high levels of aCD20 mRNA in DLBCL clinical cases provide support for future investigation of both potential clinical approach and evaluation of response biomarkers in a larger cohort of patients treated with RTX plus chemotherapy. **Financial Support:** FAPERJ-PPSUS; FAPERJ-PensaRIO

0555

Clinical characterization and survival of patients with follicular lymphoma: a retrospective analysis of a single center in the pre-rituximab era

Scheliga A^{1,2}, Pereira IG², Bigni RS³, Romano SO⁴, Pinto MM², Rajo VL², Castro TM², Ferreira CG², Stefanoff CG²

¹ Serviço de Oncologia Clínica, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Serviço de Pesquisa Clínica, CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Serviço de Hematologia, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

⁴ Divisão de Patologia - DIPAT, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Follicular lymphoma (FL) represents 25 to 30% of lymphomas in adults, characterized by a relatively indolent clinical course, with long survival, but with a continuous pattern of relapses resulting in a currently incurable disease. The crucial event in the natural history of the LF is the histological transformation (HT) to a high-grade lymphoma, associated with a progressive clinical course, poor treatment response, short survival with high morbidity and mortality. Although different prognostic scores have been proposed to predict the outcome in patients with FL, there is no one simple and widely accepted prognostic system for these patients. The main objective of this study was to describe and evaluate the clinical outcome of patients with LF diagnosed, treated and followed up at the National Cancer Institute (INCA) in the period from 1996 to 2008. A total of 136 patients were diagnosed with FL according to World Health Organization criteria (53.6% grade I, 32.4% grade II and 14.0% grade III). Clinical, therapeutic and *follow-up* data were obtained from the database of patients with lymphoma at INCA (*data* LINFO Project). In addition, the validation of the International Prognostic Index

(IPI), Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) and Italian Lymphoma Index (ILI) prognostic scores were tested in this series. In our cohort the majority of patients presented with advanced disease at diagnosis (73.5%) however mostly asymptomatic (83.5% with PS <2). During the *follow-up* (6.5 years) the HT to high grade lymphoma was observed in 15 patients (11%). The 5-year overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) of the cohort were 30.6% and 27.2% respectively. In the multivariate analysis the PS ≥ 2 ($p = 0.001$) and increased LDH ($p = 0.017$) were associated with a lower OS at 5 years. Whereas the PS ≥ 2 ($p = 0.001$) was the only parameter associated with a lower PFS at 3 and 5 years ($p = 0.003$ and $p = 0.001$ respectively). In high-risk groups defined by the indices IPI, ILI and FLIPI, were included 19.7%, 39.5% and 23.9% of patients respectively. The overall agreement between the three international systems of classification was 52.1%, with the highest concordance (25.4%) for low-risk groups. The relationship between sensitivity and specificity of the prognostic index was performed by ROC analysis. In the prediction of OS at 3 years, the IPI was the most sensitive and specific prognostic index (AUC = 0.69, 95% CI 0.54-0.85) whereas the FLIPI showed the best relationship between sensitivity and specificity in prediction of PFS at 3 years (AUC = 0.60, 95% CI 0.46-0.75). This study allowed to evaluate the clinical characteristics and outcome of a series of well characterized morphologically patients with FL in a single center, treated with conventional therapies in the pre-rituximab era. The treatment of FL is a challenge for health policy in our country, especially the incorporation of new high cost drugs, as the monoclonal antibodies. Taking into account that the survival of FL patients treated with the monoclonal antibody rituximab significantly increased in the last decade, an evaluation of prognostic indexes in a larger cohort of patients treated conventionally can support the incorporation of these new therapeutic approaches. **Financial Support:** FAPERJ-PPSUS

0556

Secondary malignancies after treatment for follicular lymphoma: a retrospective analysis in a single cancer center

Santos RA¹, Scheliga A^{1,2}, Silva AN¹, Rajo VL¹, Pinto MM¹, Pereira IG¹, Stefanoff CG¹

¹ Serviço de Pesquisa Clínica/CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Serviço de Oncologia Clínica, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) is a heterogeneous group of malignancies, with increasing incidence in the last 40 years in western countries. Follicular lymphoma (FL) is the second most common lymphoma, corresponding approximately to 20-30% of all NHL, and up to 70% of low-grade lymphomas. Although FL remains an incurable disease with standard therapeutic modalities, new treatment regimens have improved survival outcomes for these patients. With improved survival, patients with indolent lymphomas are exposed to a longer period of time for the development of side effects associated to chemotherapy and radiation. The objective of this study was to determine the incidence of development of secondary malignancies in a morphologically well characterized group of patients with FL. We evaluate a series of 136 patients with FL treated with conventional therapies at the National Cancer Institute/Brazil (INCA) from 1996 to 2008. Clinical, therapeutic, and *follow-up* data (including occurrence of secondary malignancies) were obtained from the database of lymphoma patients at INCA (dataLINFO Project). In this retrospective study, we found five patients with FL, all of them classified as low-risk according to the FLIPI score, who developed a secondary malignancy including: invasive ductal carcinoma of the breast (75-year-old female), poorly differentiated squamous

cell carcinoma of the skin (82-year-old man), acinar type adenocarcinoma of the prostate (58-year-old man), poorly differentiated colorectal adenocarcinoma (79-year-old female) and metastatic sarcomatoid squamous cell carcinoma (60-year-old man). In this series it was not observed any case of *de novo* NHL. The median time between diagnosis of FL and of a secondary tumor was 36 months (range 24-120). Two patients developed secondary tumors while they were on watchful waiting approach (WW) while 3 other patients these occurred after treatment for recurrent or progressive FL (radiotherapy or chemotherapy). All of the patients received some treatment for their secondary malignancies. Two patients died due to surgical complications or progressive disease, one patient lost the *follow-up* and 2 are alive with active lymphoma monitoring their secondary neoplasm. Secondary malignancies have clearly become important causes of morbidity and mortality in patients with indolent lymphomas. More studies of secondary neoplasm after treatment for NHL are needed to clarify the role of prior therapy, host susceptibility and other common risk factors. Despite the advanced age in most patients with indolent NHL, the persistently high risk of secondary neoplasms should alert physicians to the importance of continued medical surveillance. Although the high cost, it is known that rituximab when introduced in the treatment of FL significantly increased overall survival. However the cost impact in improving overall survival in patients with greater burden of comorbidities should be calculated and analyzed in larger prospective studies. **Financial Support:** FAPERJ-PPSUS

0557

Primary bone lymphoma: a retrospective analysis of 32 patients in a single institution

Santos AL¹, Reinert T¹, Romano SO², Scheliga A^{1,3}, Stefanoff CG³

¹ Serviço de Oncologia Clínica, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Divisão de Patologia - DIPAT, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Serviço de Pesquisa Clínica/CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Primary bone lymphoma (PBL) is a rare condition which accounts for approximately 5% of all extra-nodal lymphomas and less than 1% of all Non-Hodgkin's lymphoma. Although bone involvement may be found in advanced-stage of lymphoma originating at other sites, PBL is defined as a lymphoma which occurs primarily in the bone without the known involvement of any other site in the body. The presence of regional lymph node involvement does not exclude a diagnosis of PBL. The majority of PBL is Non-Hodgkin lymphoma (NHL), with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) being the most common subtype. The standard treatment consists of CHOP combination chemotherapy (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone) with or without rituximab associated or not with radiotherapy. In this study we retrospectively analyzed the characteristics and outcome of 32 consecutive, previously untreated PBL patients treated between 1997 and 2010 at the National Cancer Institute (INCA). Clinical, therapeutic, and *follow-up* data were obtained from the database of lymphoma patients at INCA (dataLINFO Project). The median age was 44 years (range 16 -72) with pediatric patients excluded from our analysis. Most patients (62.5%) were men and the disease was monostotic in 84.3% of the cases and the femur was the most frequently presented site in 9 patients (28.1%). The most common subtype was DLBCL (27 of 32 patients) with 4 cases classified as high grade NHL and one case as small cell low grade lymphoma. Twenty-three patients (71.8%) had stage IE according to Ann Arbor staging system and 59.3% (19 patients) were classified as low risk by the International Prognostic Index (IPI). In 24 patients the chemotherapy alone was the first line regimen (75.0%) and only 8 patients received rituximab in combination with CHOP.

Twenty patients (62.5%) received additional radiation to chemotherapy. None of our patients underwent autologous stem cell transplantation. Response data were extracted from medical files, even if the assessment of treatment response is hampered by persistent abnormalities on bone images. In this series, the disappearance of all evidence of lymphoma (complete response) was observed in 12 patients (37.5%), partial response in 9 patients (28.1%) with an overall response rate of 65.6%. Unfortunately the response data were missing or could not be retrospectively analyzed in 11 patients. The median follow up was 56 months (range 13-123). Five patients died in this period with a mortality rate of 15.6%. In conclusion, DLBCL is the most common subtype of PBL at INCA with a better survival compared to other extranodal lymphomas. The most frequent bone segments involved were the femur followed by the humerus with a higher prevalence in male patients. Our results reported here are comparable to international published data. **Financial Support:** FAPERJ-PPSUS

0558

Clinical features, management and outcome of primary breast lymphoma patients treated in a single cancer center

Reinert T¹, Santos AL¹, Romano SO², Scheliga A^{1,3}, Stefanoff CG³

¹ Serviço de Oncologia Clínica, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Divisão de Patologia - DIPAT, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Serviço de Pesquisa Clínica, CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Primary breast lymphoma (PBL) is a very uncommon condition that accounts for around 0.5% of all malignant diseases of the breast and 2% of extranodal malignant lymphomas. Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) is the most common histological subtype in most series. Systemic chemotherapy with CHOP (combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone) and radiotherapy on the breast and nodal areas is currently the standard treatment in patients with DLBCL. The 5-year survival rate in the larger series is 46% to 61%. In this retrospective study, we analyzed a group of 18 patients diagnosed with PBL between 1999 and 2012, in a single cancer center. All cases fulfilled the diagnostic criteria for clinical and pathological features of Wiseman & Liao which are: 1) adequate pathological specimen, 2) close association of mammary tissue and lymphomatous infiltrate, and 3) no other localization at the time of lymphoma diagnosis, except for the presence of ipsilateral axillary nodes simultaneously with the primary breast lesion. The clinicopathological features, the therapeutic approach and outcome data were obtained from the database of patients with lymphoma at the National Cancer Institute-INCA (*data* LINFO Project). The median age was 64 years (range 30-71) and the most common histological subtype according to the WHO classification was DLBCL (11/18, 61%). Anaplastic lymphoma was the second most common subtype, followed by follicular lymphoma, Hodgkin's lymphoma, mantle cell and T-cell lymphoma. Twelve patients presented with localized staging according to Ann Arbor staging system (six patients IE and 6 IIE), while the others 6 with advanced disease (three patients IIIE and 3 patients IVE). The presence of B symptoms was observed in one third of patients. Eleven patients (61%) were classified as low-intermediate risk, 22% as high-intermediate risk and 16% as high risk, according to the International Prognostic Index (IPI). The CHOP-like chemotherapy was the first treatment in 17 patients. Nine patients received additional radiotherapy on the breast and adjacent nodal areas. Two patients underwent autologous stem cell transplantation. Overall response rate was 77%, with median response duration of 13.5 months (range 3-58). The median survival time was 25.9 months (range

1-110) with 5 years survival rates of 33%. In conclusion, the majority of PBL observed at INCA was aggressive B-cell NHL with about one-third of the patients identified of having disseminated disease. For its rarity was not possible to standardize the most appropriate therapy. However, it is believed that chemotherapy followed by radiation of the target area is needed, whereas radical surgery must be abandoned. In recent years there has been an increasing concern about a possible association between breast implants and PBL in particular the anaplastic large cell lymphoma (ALCL). In this series no patients were associated with the presence of breast implant. In general, this heterogeneous disease is associated with a poor prognosis. The use of new therapeutic strategies, especially the use of anti-CD20 Rituximab, deserves evaluation in prospective studies. **Financial Support:** FAPERJ-PPSUS

0559

Linfomatose meníngea primária: relato de caso

Lima JM, Melo AL, Freitas LF, Silveira CA, Neto JV, Vasconcelos MC

Hospital de Base do Distrito Federal – HDBF, Brasília, DF

Introdução: O linfoma primário do sistema nervoso central representa quatro por cento das neoplasias malignas que acometem este sistema. É uma variante incomum de linfoma não-Hodgkin extranodal que pode envolver encéfalo, meninges, visão e/ou medula espinhal, sem evidências de doença sistêmica. Dez a vinte e cinco por cento desenvolvem doença meningea, contudo, esta é extremamente rara na ausência de lesão cerebral. Menos de um por cento apresenta envolvimento primário da medula espinhal, geralmente com nódulos intramedulares discretos. O principal fator de risco é a imunodeficiência, mas casos em indivíduos imunocompetentes têm sido relatados geralmente associados a outras doenças. Relato de Caso. Homem, 61 anos, carregador de verduras, natural e morador de Brazlândia no Distrito Federal, previamente hígido e ativo, apresentava, há dez meses, astenia, cefaleia e fraqueza muscular periférica que progrediram para episódios recorrentes de convulsão, tontura, náuseas, vômitos, emagrecimento, declínio das funções cognitivas e flutuação do nível de consciência, sem alterações visuais. Ausência de adenomegalias e de massas ao exame físico e de imagem. No sangue periférico, somente discreta leucocitose e neutrofilia. Sorologias para HIV, hepatites B e C, e citomegalovírus não reagentes. A ressonância nuclear magnética evidenciou hipersinal dos sulcos cerebrais e captação difusa de contraste na superfície meníngea, realce da placa de distribuição na margem do cordão medular dorsal, realce meníngeo da medula dorsal distal e da cauda equina. A análise do líquido mostrou hiperproteninorraquia, hipoglicorraquia, hiperalbuminose à custa de neutrófilos, com células blásticas e linfócitos maduros de permeio, e sua imunofenotipagem revelou doença linfoproliferativa B monoclonal Kappa, CD 5 e CD 23 negativos. Foi tratado de acordo protocolo IELSG. A evolução foi desfavorável devido pneumonia e sepse. Discussão. O SNC normalmente não apresenta agregados linfóides. A fenotipagem do nosso caso, por sua vez, não favorece a teoria de que a transformação maligna se desenvolve sistemicamente em uma subpopulação de linfócitos com tropismo para o SNC, já que não houve expressão de moléculas de adesão (CD44 e CD18). Nosso paciente apresentou-se clinicamente com manifestações mistas (meningismo e medulares), diferentemente do observado na literatura em que há predomínio de um ou de outro. A investigação deve ser feita com exame de imagem contrastado, análise do líquido cefalorraquidiano e exame ocular com lâmpada de fenda, único recurso não disponível em nosso caso. O diagnóstico definitivo foi dado com base na fenotipagem do LCR, como indicado na literatura, em que 30% dos casos pode revelar células malignas linfóides. Nossa opção terapêutica recaiu sobre a associação de metotrexato em altas doses com citarabina, uma vez que a terapia combinada oferece maiores

taxas de resposta completa e global. No entanto, este tratamento apresenta maior toxicidade hematológica e complicações infecciosas (32%), o que ocorreu no nosso caso, com óbito após 10 meses do início do quadro. Considerações Finais. Foi apresentado um caso incomum de linfoma não-Hodgkin agressivo de comprometimento exclusivamente meningeo e com sobrevida curta.

0560

R-CHOP treatment for the very elderly patients (over 80 years) with diffuse large B cell lymphoma: clinical characteristics and outcome

Rajo VL¹, Pinto MM¹, Santos RA¹, Silva AN¹, Nóbrega IC¹, Moraes AB¹, Pereira IG¹, Scheliga A^{1,2}, Stefanoff CG¹

¹ Serviço de Pesquisa Clínica, CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Serviço de Oncologia Clínica, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

The number of individuals considered to be very old (over 80 years) increased more than 250% between 1960 and 2000 and by 2030 it is expected that the population aged over 75 years will triple. Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) is the most common lymphoid neoplasm, representing 30-40% of non-Hodgkin lymphomas (NHL) in adults. Its incidence increases progressively with age and approximately 40% of cases occur in patients older than 70 years. Very few data are available on the outcome of treatment of patients with DLBCL and more than 80 years. Understand the clinical and epidemiological characteristics of this subgroup of elderly patients as well as their response to treatment with R-CHOP (rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone), will allow better clinical management of a group with characteristics that differ from the younger group of patients. The main objective of this study was to analyze the clinical characteristics and the response rate to R-CHOP treatment among very old patients (≥ 80 years) diagnosed with DLBCL at National Cancer Institute (INCA). A retrospective review was conducted of all patients ≥ 80 years diagnosed and treated at INCA between 2008 and 2010. Nine patients were diagnosed with DLBCL, according to the WHO criteria. The clinicopathological features, the therapeutical approach and outcome data were obtained from the database of patients with lymphoma at the National Cancer Institute-INCA (*data* LINFO Project). The median age on this series of very elderly patients was 83 years (range 80-87). In this study five of nine patients (55.6%) had B symptoms and enzyme lactate dehydrogenase (DHL) above the upper limit of normal. Of the 9 patients, 6 presented with advanced disease (66.7%), 5 with International Prognostic Index (IPI) > 2 (55.6%), and 6 with good performance status (0-1) at diagnosis (66.7%). Information about examination of bone marrow (BM) was available in all patients with no BM infiltration. Response assessment was available for 7 patients, with 100% of overall response rate (5 complete responses and 2 unconfirmed complete responses). With a median *follow-up* of 44 months (range 21-51), 2 patients died within 30 and 60 days of diagnosis, 1 patient recurred and died after completion of treatment, 2 patients died in complete response and 4 patients remain alive without any evidence of disease. DLBCL in very elderly patients is as responsive to R-CHOP as in younger patients. Impaired BM function and the presence of comorbidities can increase the number of treatment-related toxicities. For most patients R-CHOP remains the standard of care. An interim echocardiography as well as the use of prophylactic granulocyte colony-stimulating factor should be performed in order to reduce toxicities. Every effort should be done to provide curative therapy for elderly patients. Despite being a small series, this study provided a good analysis of the outcome of very elderly patients with DLBCL treated with standard R-CHOP in a single center, contributing to the discussion about the appropriate therapeutic approach for this special group. **Financial Support:** FAPERJ-PPSUS

0561

Relato de Caso: linfoma de células T periféricas não especificado

Marcondes NA¹, Schneider L¹, Siegle AL¹, Eickhoff C², Fernandes FB¹, Faulhaber GA¹

¹Laboratório Zanol

²Hospital de Caridade de Ijuí

Introdução: Os linfomas de células T periféricas representam cerca de 12% dos linfomas e cerca de metade deles são de tipo não especificado. O linfoma de células T periféricas não especificado é um diagnóstico de exclusão e inclui um grupo heterogêneo de linfomas que não preenchem critérios para outros diagnósticos de doenças de células T. Ocorre tipicamente em adultos, com idade média de 55-60 anos, com maior prevalência em homens. Geralmente se apresenta como doença disseminada, ocasionalmente com eosinofilia, prurido ou, raramente, síndrome hemofagocítica. As células apresentam morfologia variável (de monomórficas a pleomórficas) e tamanho grande. O imunofenótipo é de uma célula T aberrante, com perda frequente de CD5 e CD7, pode haver expressão de CD30 e, frequentemente, apresenta expressão de TCR beta. **Relato de Caso:** Paciente feminina, 59 anos, HIV negativo, apresentando leucocitose ($>100.000/\mu\text{L}$) com linfocitose, sem anemia, plaquetas normais e calcemia normal, com adenomegalias generalizadas, lesão de pele (placa) e histórico de prurido há seis meses. A biópsia de linfonodo revelou linfoma T de alto grau. A imunofenotipagem de sangue periférico demonstrou presença de 92,4% de linfócitos que expressavam CD2, cCD3, CD3, CD4, CD5, CD7, TCR α/β , CD45, CD30 e co-expressavam CD11c, CD38 e HLA-DR. O resultado da imunofenotipagem e os aspectos clínicos foram compatíveis com linfoma de células T periféricas não especificado. **Discussão:** O diagnóstico diferencial deve ser feito com outros linfomas T: linfoma angioimunoblástico, leucemia/linfoma T do adulto, linfoma anaplásico de grandes células, linfoma B rico em células T e hiperplasia de zona T. Imunofenotipicamente a entidade não se caracterizava como nenhuma destas patologias, já que não apresentava expressão de *CD25* (positivo em linfoma angioimunoblástico, no linfoma anaplásico de grandes células e na leucemia/linfoma T do adulto) e nem de *CD20* (positivo em linfoma B rico em células T e expresso em intensidades variadas na hiperplasia de zona T). Os pacientes com linfoma de células T periféricas não especificado apresentam uma sobrevida estimada em 5 anos menor do que 15%.

0562

Experiência do Serviço de Hematologia da Faculdade de Medicina do ABC em linfoma ósseo no período de 2008-2012

Vieira FC, Silva IV, Amaro NS, Cardoso PN, Todaro J, Russo R, Bollmann PW, Bigonha J, Borducchi DM, Giglio AD

Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP

Introdução: O linfoma primário do osso (LPO) é uma condição extremamente rara, habitualmente confundida com outras lesões ósseas primárias. É responsável por cerca de 3% - 5% de todos os tumores malignos no osso e 4% - 7% de todos os linfomas não-Hodgkin extra-nodais. Caracteriza-se pelo envolvimento de um ou vários locais ósseos, com ou sem comprometimento de linfonodos regionais e vísceras. A combinação de quimioterapia e radioterapia tornou-se o tratamento padrão. LPO é um tumor maligno que é altamente curável com essa terapia combinada. **Objetivo:** Demonstrar a experiência do Ambulatório de Linfomas da Faculdade de Medicina do ABC (FMABC) / Hospital Estadual

Mário Covas (Santo André-SP) no período de 2008 a 2012. **Métodos:** No período de 2008 a 2012 foram atendidos no Ambulatório de Linfomas da FMABC, 11 pacientes com Linfoma primário de osso. A mediana de idade desta população foi de 58 anos, 63% pertencem ao sexo feminino, com predomínio do subtipo histológico difuso de grandes células B (81%). O tratamento instituído foi de quimioterapia padrão de acordo com subtipo histológico, quimioterapia e radioterapia ou radioterapia isolada. E um caso após quimioterapia foi encaminhado para transplante autólogo de medula óssea. Os outros tiveram uma resposta satisfatória ao tratamento medicamentoso e uma baixa toxicidade aos esquemas. **Conclusão:** Estes casos demonstram a importância da imunohistoquímica no diagnóstico desta patologia, principalmente pela raridade da doença. Além disso, a baixa toxicidade apresentada por nossos pacientes com a utilização de quimioterapia adequada favorece a uma boa adesão à terapêutica. O diagnóstico precoce favorece um tratamento mais eficaz e reduz o risco de sequelas, diminuindo a morbi-mortalidade dessa doença.

0563

Avaliação de perfis de expressão gênica com valor prognóstico no linfoma de Hodgkin clássico da infância e adolescência

Vera-Lozada MG¹, Barros MH^{1,2}, Scholl V³, Cappelletti P³, Stefanoff CG⁴, Hassan R¹

¹ Laboratório de Oncovirologia, CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Institute for Pathology, Unfallkrankenhaus Berlin, Berlin, Germany

³ Laboratório de Biologia Molecular, CEMO Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

⁴ Serviço de Pesquisa Clínica, CGTC Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: O linfoma de Hodgkin clássico (LHc) é uma doença caracterizada por apresentar 1-3% de células tumorais (Hodgkin-Reed-Sternberg), em meio a um intenso infiltrado de células inflamatórias. Estudos prévios em adultos com a doença têm caracterizado alterações em diferentes vias funcionais, incluindo ciclo celular, apoptose e microambiente tumoral, que foram associadas ao desfecho clínico. O objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicabilidade de um "escore" de expressão de genes envolvidos nas vias do ciclo celular, apoptoses e microambiente tumoral, validados previamente em adultos (Sanchez-Espiridion *et al*, Blood. 2010;116: e12-7), em um grupo de pacientes infantis com LHc. **Métodos:** Foram analisados 90 linfonodos de material fixado e impregnado em parafina (FIP) proveniente de crianças e adolescentes com LHc (0-18 anos). Foi realizada a extração de RNA, síntese de cDNA, pré-amplificação e qPCR em um aparelho ABI7000 utilizando o sistema *TaqMan*[®]. Como representantes do ciclo celular foram analisados os genes CENPF, CDC2, CCNA2, CCNE2 e HMMR; como genes relacionados à via de apoptose analisamos BCL2, BCL2L1 e CASP3; como representante do microambiente tumoral, os genes IRF4 e LYZ. GUSB e HMBS foram utilizados como genes de referência. A quantificação foi realizada em duplicata pelo método de 2^{-DDCq}. A expressão gênica foi correlacionada com o *status* do vírus Epstein-Barr (EBV), marcadores das células H-RS, número de células do microambiente e com a sobrevivência livre de progressão (SLP) e global (SG). As análises foram realizadas no GENEX enterprise (MultiD) e SPSS. **Resultados:** Houve correlação entre os níveis de expressão dos genes investigados, especialmente CASP3 e IRF4 com genes do microambiente e ciclo celular; o checkpoint mitótico (CENPF) refletiu o funcionamento global do ciclo celular, inclusive HMMR associado à resistência a drogas e teve uma forte associação com IRF4. O perfil de microambiente foi associado a apoptose e checkpoint G1/S. A presença

do EBV foi associada com um aumento da expressão de LYZ ($p=0,009$) e CENPF ($p=0,01$). Um alto índice de proliferação das células H-RS (Ki67>50%) foi associado a alta expressão de HMMR (0,008). Não houve correlação entre a expressão gênica e a expressão de Bcl2, p53 e p21 por IHC. Em relação às subpopulações do microambiente tumoral, CD4 foi diretamente correlacionado com CENPF ($p=0,006$), Bcl2L1 com *FoxP3* ($p=0,006$); CASP3 foi correlacionada com CD8, TIA1 e CD163. A expressão de LYZ foi direta e altamente correlacionada com CD68, CD163, Tia1 e GrzB. A SLP foi significativamente menor em casos com alta expressão de CASP3 ($p=0,03$) e marginalmente menor nos casos com alta expressão de CENPF ($p=0,056$). **Conclusões:** Nossos Resultados indicam que: (1) Há padrões de expressão gênica identificáveis e com significado biológico no LHc de crianças; (2) Escores clínicos propostos em adultos não são reproduzíveis diretamente e devem ser validados no grupo das crianças, devido à presença de características diferenciadas; (3) O poder estatístico para validar o presente escore clínico foi limitado, um resultado definitivo será obtido somente após análise de um maior número de casos. Financiamento: FAPERJ-PensaRIO e INCT para o Controle do Câncer (CNPq/FAPERJ).

0564

Linfoma não-hodgkin difuso de grandes células B em pacientes idosos atendidos em 2010 e 2011 no Hospital Estadual Mário Covas

Cardoso PN, Silva IV, Vieira FC, Amaro NS, Higashi M, Bigonha J, Wroclawski CK, Manhani AR, Borducchi DM, Giglio AD

Faculdade de Medicina do ABC – FMABC, Santá Andre, SP

Introdução: Os linfomas compõem um grupo de doenças heterogêneas, originárias do tecido linfóide. O Linfoma Não-Hodgkin Difuso de Grandes Células B (LNHDGCB) é o mais comum do adulto (50%). Os pacientes idosos têm uma alta frequência de LNHDGCB, geralmente apresentam um prognóstico ruim, de acordo com o IPI e apresentam um curso agressivo. **Objetivo:** Avaliar o perfil dos pacientes com LNHDGCB, com idade ≥ 60 anos, acompanhados no Hospital Estadual Mario Covas, (Santo André-SP), entre janeiro de 2010 a dezembro de 2011. **Métodos:** Realizou-se um estudo transversal, retrospectivo, em uma população de 20 pacientes com diagnóstico de LNHDGCB, com idade ≥ 60 anos. Foi usado como base o programa *Quality Oncology Practice Initiative* da ASCO. **Resultados:** Em nosso estudo, 60% ($n=12$) apresentaram sintomas B. Na avaliação de estadiamento, 7 (35%) dos pacientes eram estadio I, 3 (15%) estadio II, 4 (20%) estadio III e 6 (30%) estadio IV. O uso de corticoterapia pré-tratamento foi feito em 50% ($n=10$) dos pacientes, 70% ($n=14$) receberam R-CHOP-21. O GCS-F foi realizado em 65% ($n=13$) dos doentes. **Discussão:** *Boyiadzis e Foon (2010)* demonstraram uma prevalência maior no sexo masculino, mas neste estudo verificou-se o contrário (60% de mulheres), tal fato pode ser justificado pela maior expectativa de vida das mulheres em nosso país. O linfoma na população idosa merece uma atenção especial, devido a múltiplos fatores que complicam e alteram os Resultados do tratamento da doença. Os pacientes apresentavam estadio precoce ao diagnóstico em sua maioria. A realização de consultas médicas periódicas para o acompanhamento de outras doenças pode ter favorecido o diagnóstico precoce. O uso de corticoterapia pré-tratamento nesta amostra foi de 50% e destes 90% não apresentaram atraso nos ciclos e nem toxicidades importantes, o que revela uma prática vantajosa nestes pacientes. **Conclusão:** O diagnóstico precoce é essencial para uma melhor resposta ao tratamento. O uso de quimioterapia deve seguir um protocolo bem estabelecido. O uso de GCS-F de maneira precoce é importante na evolução do paciente durante o tratamento. É indispensável que o Sistema Único de Saúde garanta o tratamento regular com o Rituximab.

0565

Detecção de rearranjos no gene da cadeia gamma do receptor de células T (TCR-gamma) por PCR e análise de fragmento: aplicação da abordagem biomed-2 e comparação com Métodos convencionais de detecção de clonalidade T

Emmel V¹, Segges P¹, Romano SO², Zalberg I³, Stefanoff CG⁴, Hassan R¹

¹ Laboratório de Oncovirologia, CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Divisão de Patologia - DIPAT, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Laboratório de Biologia Molecular, CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

⁴ Serviço de Pesquisa Clínica, CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: Os linfomas não-Hodgkin de células T (LNH-T) compreendem um grupo heterogêneo de doenças causadas por uma proliferação linfocitária clonal maligna. O diagnóstico dos LNH-T é baseado na avaliação histopatológica, e em uma fração significativa de casos, a pesquisa de clonalidade por PCR é fundamental no diagnóstico, principalmente nos linfomas T periféricos e nos linfomas cutâneos. **Objetivo:** Este estudo compara a sensibilidade da PCR utilizando a abordagem do consórcio internacional BIOMED-2 para detecção dos rearranjos do gene TCR γ usando eletroforese capilar (PCR-EC) com um método histórico baseado na amplificação por PCR e a eletroforese em gel de poli(acrilamida) convencional (PCR-PAGE). **Métodos:** Um total de 80 casos foram analisados por PCR-PAGE e PCR-CE. A metodologia adotada seguiu as recomendações do Biomed-2 que utiliza PCR multiplex com iniciadores consenso marcados com fluorescência para amplificar os rearranjos clonais do TCR γ seguida por análise de fragmentos por eletroforese capilar. A metodologia histórica foi previamente descrita (Stefanoff *et al.* Diagn Mol Pathol 2003;12:79-87). Os subtipos analisados foram o linfoma linfoblástico (19%), ATLL HTLV1+ (18%), o anaplásico e os linfomas cutâneos (majoritariamente micose fungóide), ambos representando 15% dos casos. **Resultados:** A taxa de concordância obtida entre PCR-PAGE e PCR-FCE foi de 82,5% (64/80). A detecção de rearranjos clonais foi possível em 51 casos (65,3%). A PCR-CE apresentou uma maior sensibilidade (96,1%) em comparação com a PCR-PAGE (82%), permitindo a detecção de rearranjos clonais de células T em 14 casos adicionais, que por PCR-PAGE exibiram um padrão de bandas policlonais no gel. O subtipo com maior taxa de falso positivo por PCR-PAGE foram os linfomas cutâneos (55,5%) seguido pelo subtipo anaplásico (22,2%), linfoblástico (21%) e HTLV+ (18,1%). O padrão de pico na PCR-FCE foi reprodutível em 5 casos consecutivos (casos com mais de uma amostra biológica disponível para análise). A PCR-PAGE e a PCR-CE foram concordantes e capazes de detectar rearranjos em 2 casos estudados para o estabelecimento de Doença Residual Mínima (DRM). **Conclusão:** A metodologia aplicada foi considerada eficiente e reprodutível mostrando que a análise de clonalidade se beneficia da análise de fragmento, especialmente em casos com baixa quantidade de células T infiltrantes (linfomas cutâneos) e nos casos de DRM. Financiamento: FAPERJ-PPSUS

0566

Gastric malt lymphoma as a component of multiple tumor syndrome

Ribas C, Navarro MA, Pope LL, Hornburg G, Junior RC

Hospital Dona Helena, Joinville SC

Purpose: Occurrence of multiple primary cancers (MPC) in a single patient is a relatively rare event. Here we report a unique case of three synchronous primary tumors, each in a different organ, including extra nodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated tissue (non-Hodgkin's MALT lymphoma) of stomach. **Methods and Results:** A previously healthy 56-year-old male patient presented with sub acute evolution of posterior chest pain and worsening chronic cough. He had a positive history of heavy cigarette smoking, gastric surgery for peptic ulcer disease twenty years ago and penicillin allergy. Initial chest XR showed middle lobe opacity and a small nodule in upper right lung. Chest/Abd CT scan revealed right lung lesions suggestive of malignancy, not excluding metastasis, lytic lesion with pathologic fracture of the right sixth rib, signs of emphysema and questionable thickening of the gastric wall, with no lymphadenopathies or other masses. Bronchoscopy did not visualize any bronchial abnormality. Colonoscopy showed two polyps in the ascending colon with histology of mesenchymal neoplasm, possibly granular cell tumor, resected with free margins through polypectomy. Upper endoscopy revealed several shallow small gastric ulcers (up to 20 mm), with a lymphomatous aspect. Pathologic examination with immunohistochemistry of gastric biopsies was diagnostic for non-Hodgkin's MALT lymphoma. Rapid urease testing and gastric histology were negative for *H. pylori*, but serology (IgG and IgM) was positive. Segmentectomy of the middle lobe of right lung with lymph node and pleural sampling was then performed. Pathological diagnosis with immunohistochemistry was primary lung adenocarcinoma compromising lung parenchyma, pleura and mediastinal nodes. Bone scan was suggestive of additional bone metastasis. Bone marrow biopsy was negative for malignant infiltration. The patient has initiated *palliative* chemotherapy for metastatic lung cancer (carboplatin, paclitaxel, bevacizumab and zoledronic acid) in association with antimicrobial regimen (clarithromycin, metronidazole and PPI), showing good treatment tolerance. **Discussion:** The multiple tumor syndrome is an unusual condition, characterized by the combination of multiple malignancies in the same patient. Although simultaneous occurrence of gastric non-Hodgkin's MALT lymphoma and epithelial cancer has been occasionally described, even as collision tumors in the same organ, we report here the rare concurrent association of localized gastric MALT lymphoma with lung adenocarcinoma and colon mesenchymal tumor. Such uncommon scenarios result in therapeutic dilemmas for management decision where prognostic considerations should be taken into account in order to prioritize the most virulent tumor. **Conclusion:** As a result of both better screening programs, allowing for early cancer detection, and progressive improvements in oncologic treatment outcomes, resulting in longer life expectancy, it is anticipated that the incidence of multiple primary malignancies will increase in the coming years. Awareness of the biological behavior of different neoplasms, with attention to findings unexplainable by a single entity or that challenge the usual metastatic pattern should prompt the investigation of possible multiple primary tumors.

0567

Detecção da mutação v600e no gene BRAF na leucemia de células pilosas por reação em cadeia da polimerase alelo específica (AS-PCR)

Segges P¹, Diamond HR², Zalberg I³, Meis E⁴, Stefanoff CG⁵, Hassan R¹

¹ Laboratório de Oncovirologia, CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Laboratório de Imunologia, CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Laboratório de Biologia Molecular, CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

⁴ Serviço de Hematologia, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

⁵ Serviço de Pesquisa Clínica/CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: A Leucemia de células pilosas (“*Hairy cell leukemia*”, HCL) é uma doença linfoproliferativa rara caracterizada por uma proliferação maligna indolente de células B com projeções citoplasmáticas. É considerada uma doença de difícil diagnóstico, com expressão celular de imunoglobulina (Ig) de superfície “bright”, co-expressão de CD20, CD22, e CD11c, e expressão de CD103 e CD25. A forma variante da HCL-v é caracterizada pela ausência de CD25. Na atualidade, avanços foram feitos no sentido de subclassificar molecularmente a doença, tendo sido identificado um grupo com características distintas da HCL clássica incluindo expressão variante e Ig de tipo IGHV4-34, em termos de apresentação clínica, diferenças imunofenotípicas e resposta inferior às terapias padrão. Recentemente foi descrita a presença da mutação (V600E) no gene *BRAF* em uma alta proporção de casos com HCL. Esta mutação somática (T1799A) no exon 15 de *BRAF*, causa a substituição, na proteína, do aminoácido valina por glutamato (V600E) e consequentemente a ativação constitutiva da *BRAF* quinase. A realização do diagnóstico em fase inicial é crucial, devido ao prognóstico geralmente favorável, e à ótima resposta terapêutica, e portanto, o desenvolvimento e validação de um método molecular para a detecção da mutação V600E é fundamental. **Objetivo:** Validação da detecção pela técnica de reação em cadeia da polimerase alelo-específica (AS-PCR) de mutações no gene *BRAF* na leucemia de células pilosas. **Métodos:** Um total de 25 casos com leucemia linfocítica crônica, 8 casos com linfoma esplênico, um caso com HCL e 5 casos com suspeita de tricoleucemia sem diagnóstico definitivo foram analisados por AS-PCR. Foram realizadas duas reações de AS-PCR, tendo em comum o mesmo iniciador reverso (5'-3') e diferentes iniciadores alelos específicos cuja região 3'-terminal foi desenhada para ser complementar a alelo de tipo selvagem (T) ou ao mutante (A), ambos amplicons com 147pb. A linhagem ES2 (carcinoma de células claras de ovário) heterozigota para mutação V600E foi utilizada como controle positivo e amostras de 5 doadores sadios como controle negativo. Os rearranjos clonais de IGH foram amplificados com *primers* FR1-JH (Biomed-2) e sequenciados. **Resultados:** A sensibilidade analítica do ensaio de AS-PCR foi estimada em $\geq 0.1\%$ de alelo mutante *BRAF*, através de diluições em série da linhagem ES2 heterozigota para a mutação e o controle homozigoto. Nenhum dos casos com LLC ou linfoma esplênico foram positivos para a mutação. O caso de HCL com diagnóstico confirmado foi positivo para a mutação, enquanto que no grupo com diagnóstico diferencial entre LLC e HCL foram identificados 2 indivíduos heterozigotos para a mutação V600E, ambos expressando CD5 e CD23, mas também CD25 e CD11c. Os casos com a mutação tiveram o alelo *BRAF* confirmado por sequenciamento de Sanger. Um caso *BRAF* -negativo foi caracterizado como HCLv (CD20: 65%, CD22: 74%, CD23: 0%, CD5: 13%, CD11c: 80%, CD103: 85%, CD25: 9%), confirmando a ausência da mutação de *BRAF* no grupo HCLv. A análise de VH4-34 de 3 casos não detectou a presença deste rearranjo. **Conclusão:** A técnica de AS-PCR aplicada foi considerada eficiente, sensível e reproduzível e capaz de detectar a mutação BRAFV600E na HCL, contribuindo para o diagnóstico e subclassificação molecular desta doença. Financiamento: FAPERJ-PPSUS

0568

Invasão cardíaca secundária a linfoma: relato de caso

Candolo AA, Leal CT, Malta RO, Rabelo YS, Padilha PH, Ramos AF, Arantes AQ, Vassalli LC, Clé DV, Rodrigues RD

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Neoplasias cardíacas são raras, e na grande maioria dos casos são metástases. Os linfomas, particularmente o linfoma difuso de grandes células B, são reconhecidos como um dos tumores mais frequentes acometendo este órgão. Não é infrequente o achado de

infiltração cardíaca em necrópsias de pacientes com linfoma, observada em até 25% dos casos. Apresentamos o caso de um paciente de 65 anos, com obstrução nasal, rouquidão, anosmia, surdez à direita e assimetria amigdalár, sendo realizada a biópsia em orofaringe e diagnosticado linfoma difuso de grandes células B. Dez dias após, o paciente evoluiu com dispnéia aos esforços associado a dor retroesternal, sendo realizado cateterismo cardíaco sem evidência de lesões coronarianas no entanto, a cintilografia cardíaca foi sugestiva de infiltração neoplásica. Realizado então a ressonância magnética (RM) cardíaca, que demonstrou imagens nodulares irregulares na parede do miocárdio do ventrículo esquerdo de aspecto infiltrativo e expansivo. Realizado estadiamento do linfoma com acometimento de cavum, nódulos pulmonares e retroperitoneais, além de lesão infiltrativa miocárdica (IV AE, IPI 4). Programado VI ciclos de R-CHOP, e após três ciclos, o paciente apresentou redução em mais de 50% das massas, em todos os locais de acometimento, inclusive cardíaco, confirmado pela RM. Devido a piora da função cardíaca, após uso de antracíclicos, e neutropenia febril prolongada, a adriamicina foi retirada do esquema terapêutico, e no ciclo de tratamento subsequente, o paciente evoluiu a óbito devido a complicações infecciosas. Apesar do possível e, não tão raro, acometimento cardíaco pelos linfomas, os sintomas cardiovasculares são infrequentes nestes casos. Quando presentes, ocorrem em estádios avançados do linfoma, ou são mascarados pelos sintomas da própria doença, sendo assim, local pouco investigado durante o estadiamento. Na maioria das vezes, o diagnóstico é um achado de exame, ou muitas vezes realizado na necrópsia. Este caso descrito evidencia a importância de se atentar a este local como possível sítio de acometimento de linfomas.

0569

Simultaneous occurrence of gastric adenocarcinoma and low-grade gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue: a case report

Silva AN¹, Pereira IG¹, Oliveira IM², Santos RA¹, Rajó VL¹, Pinto MM¹, Scheliga A^{1,3}, Stefanoff CG¹

¹ Serviço de Pesquisa Clínica/CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Divisão de Patologia - DIPAT, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

³ Serviço de Oncologia Clínica, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

While the adenocarcinoma remains one of the most common malignancies arising in the stomach, primary gastric lymphoma is relatively uncommon occurring in only 1-7% of all cases. The occurrence of adenocarcinoma and gastric lymphoma in the same patient found by chance is considered a very rare event. Little is known regarding the pathogenesis and clinicopathologic features common to both diseases. The main objective of this study was to describe a case of adenocarcinoma concomitant with MALT (mucosa associated lymphoid tissue) non-Hodgkin lymphoma evidenced by a single gastric biopsy. For the purpose of this study, cases of primary gastric lymphoma admitted to INCA between January 2005 to December 2010 were retrieved from the clinic database of patients with lymphoma at INCA (dataLINFO Project). A 60 years female patient developed progressive abdominal pain associated with nausea, bloating and significant weight loss. An endoscopy procedure showed an extensive ulcerative lesion involving the anterior and posterior wall as the lesser curvature of the gastric antrum. A biopsy specimen revealed a moderately differentiated adenocarcinoma. The patient was then referred to the National Cancer Institute (INCA) for evaluation and treatment. The laboratory exams carried out showed: hemoglobin 11.9 g / dl, hematocrit 36.7%, DHL 361U/l, albumin 4.0 g/dl, ALT 12U/ and AST 14U/l. The patient underwent total gastrectomy with lymphadenectomy and

Roux-Y reconstruction. During the surgery it was found a bulky tumor in the stomach with lymphadenopathy in the lesser curvature. Histological examination revealed a typically small B-cell proliferation, low-grade MALT lymphoma located in the upper third and a moderately differentiated gastric adenocarcinoma showing a papillary-tubular pattern at the middle, and lower third of the stomach. H. pylori infection was not detected by histological examination. The patient progressed well during the first 6 months after surgery and thereafter, presented with progressive abdominal pain, significant weight loss and poor performance status. A physical examination and abdominal ultrasound showed massive hepatomegaly with the presence of multiple intrahepatic nodules compatible with metastatic disease. The patient died a few days later. This present case report describes a rare association between MALT lymphoma and adenocarcinoma in one patient simultaneously. The precise mechanism of coexistence of these tumors is unclear. Advanced age, male sex, genetic susceptibility and decrease in cellular immunity are some of the predisposing conditions. Although several studies report a possible association between infection by H. pylori and development of simultaneous lymphoma and adenocarcinoma, in this case report it was not observed. The pre-surgical differential diagnosis among gastric carcinoma and lymphoma of the stomach is extremely difficult due to similarities in appearance, although the macroscopic and pathological information is essential. Unfortunately, the accuracy information and standardization is varied which makes the diagnosis very difficult. **Financial Support:** FAPERJ-PPSUS

0570

Mieloma múltiplo com infiltração de meninges: relato de um caso

Rabelo YS, Malta RO, Leal CT, Candolo AA, Ramos AF, Oltramari MR, Padilha PH, Vassalli LC, Oliveira LC, Rego EM

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

Introdução: O envolvimento meníngeo do mieloma múltiplo é uma complicação bastante rara e grave. É diagnosticado pela presença de células plasmocitárias no líquido de pacientes com a doença. **Relato de Caso:** Paciente S.C. foi admitido pelo serviço de Hematologia em julho de 2011 apresentando dor lombar de forte intensidade e perda de 18Kg em 6 meses. Os achados laboratoriais revelavam: Hb 9,7 Ht 30 VCM 92 HCM 29,7 GB 5100 (1500 neut; 3100 linf) PLQ 174000, com presença de *rouleux*; Ca total: 11; Cr: 1,1; Uréia: 42; β 2-microglobulina: 7,5 mg/L; albumina: 2,8; lesões líticas difusas em coluna tórácica e lombar com achatamento de L4 e L5; eletroforese de proteínas com presença de pico monoclonal entre as regiões de betaglobulinas e gamaglobulinas 6,04g/dl; IgA 7040 mg/dl (VN: 85 – 385); kappa livre 7,94 (VN: 3,30-19,40 mg/l), lambda livre 2660,00 (VN: 5,71-26,30 mg/l) e razão K/Lambda 0,00 (VN: 0,26-1,65); mielograma com infiltração por 21% de plasmócitos; BMO - 100% de celularidade (hipercelular para a idade), totalmente representada por plasmócitos infiltrando difusamente os espaços intertrabeculares, com fenótipo predominantemente imaturo (plasmablastico). Imunoistoquímica: cadeia leve Kappa negativa na neoplasia; cadeia leve lambda positivo na neoplasia, CD138 e CD38 positivo na neoplasia. Recebeu então o diagnóstico de mieloma múltiplo IgA lambda DSIIIa ISSIII. Entre julho e setembro de 2011 foram realizados 4 ciclos de CTD. O estadiamento após revelou: Hb 14,3 Ht 43 VCM 88 GB 3800 N 1200 P 171.000; Ca total: 9,3; uréia: 25; Cr: 0,7; eletroforese de proteínas - presença de discreta banda monoclonal na região das gamaglobulinas (PM: 0,04); dosagem de IgA 338; Biopsia MO - MO infiltrada por moderada carga (20% a 30%) de mieloma múltiplo, imunoexpressando monoclonalidade para cadeia leve Lambda de imunoglobulina. Foi então programado TMO autólogo com tentativa de mobilização de

células com G-CSF sem sucesso em dez/11. Em maio de 2012 queixava-se de astenia progressiva e de dor em coluna lombar com Hb: 10,7, eletroforese de proteína: P.M: 5,69 g/dl; Dosagem de IgA 5550 mg/dl; Ca Total: 9,3 mg/dl, Cr: 0,8 mg/dl e biópsia MO: MO infiltrada difusamente por grande carga tumoral (100%) de mieloma múltiplo. Foi realizado mais um ciclo de CDT, mas após quinze dias evoluiu com confusão mental, fundo de olho s/ alterações; ausência de déficits motores ou sensitivos focais; sem sinais meníngeos; TC crânio: sem alterações; Líquor com citologia de fluidos revelando 77% de plasmócitos. Decidido pela realização de ESHAP (Etoposide, Solumedrol, Citarabina e Cisplatina) e quimioterapia intra-tecal (Metotrexate, Citarabina e Dexametasona) em dias alternados até líquido sem plasmócitos. Paciente evoluiu com choque séptico em período de neutropenia pós QT seguido de falecimento. **Discussão:** A invasão meníngea pelo Mieloma Múltiplo é rara e usualmente vista em pacientes, como o nosso, com grande carga tumoral. A maioria dos pacientes, sempre descritos em pequenas séries de casos, tem prognóstico bastante ruim e foi tratada com radioterapia, QT intratecal e drogas que penetram sistema nervoso central (metotrexate, citarabina e thiotepa). No entanto, ainda é necessária a realização de estudos para o estabelecimento da melhor abordagem para esses pacientes.

0571

Tratamento de resgate de Doença de Castleman multicêntrica utilizando o esquema clássico CHOP

Santos MF^{1,2,3}, Rohr SS^{1,2,3}, Pereira TD^{1,2,3}, Rosa IB⁴, Ito GM^{1,2,3}, Macedo MC^{1,2,3,4}, Villa PR^{1,2}, Ferraz PD², Geraldo BL¹, Silva RL^{1,2,3,4}

¹ Bio Sana's, São Paulo, SP

² Instituto Brasileiro de Controle do Câncer – IBCC, São Paulo, SP

³ Hospital São Camilo Pompéia, São Paulo, SP

⁴ Centro Universitário São Camilo – CUSC, São Paulo, SP

Introdução: A doença de Castleman multicêntrica é uma linfoproliferação rara, de apresentação clínica variável, podendo associar-se a infecção pelos vírus HIV e HHV-8. Devido sua baixa incidência, não há um tratamento padrão estabelecido na literatura. Existem relatos de casos de pacientes sem infecção pelos vírus HIV e HHV-8 submetidos ao protocolo CHOP e que evoluíram com boa resposta clínica. O caso abaixo mostra a resposta clínica completa obtida com o esquema CHOP em um paciente com doença de Castleman multicêntrica, após tentativa terapêutica prévia com outros esquemas quimioterápicos e imunomoduladores, sem sucesso. **Objetivos:** Relatar experiência de tratamento de doença de Castleman multicêntrica com esquema CHOP em paciente refratário ao uso de VAD e Interferon. **Relato do caso e Discussão:** JAMB, 52 anos, apresentava em 2009 quadro de anasarca com ascite e adenomegalias difusas. Apresentou na ocasião perda ponderal de 10Kg, sem febre, sudorese ou outros sintomas B. Apresentava ainda lesões papulosas violáceas em mãos. Realizada biópsia de linfonodo axilar, compatível com doença de Castleman Multicêntrica. Foi então submetido a 5 ciclos de VAD, com resposta parcial. Optado por cessação do tratamento, por toxicidade ao tratamento. Manteve-se com doença em atividade, porém estável até setembro/11, quando apresentou progressão da doença (aumento do número/tamanho das adenomegalias prévias, lesão lítica em esterno e perda ponderal importante). Foi abordado por outra equipe que optou pelo uso de Interferon como resgate. PET CT na ocasião, mostrava captação em esterno de 7 cm em local de lesão lítica e múltiplas adenomegalias não medidas (SUV: 6,2). Devido a não aderência do paciente ao esquema proposto, optamos, por iniciar resgate com protocolo CHOP. Após 1º ciclo, paciente já apresentou redução clínica significativa das adenomegalias, recuperando peso anterior e melhora da dor em esterno, associada à lesão lítica. Após 4º ciclo de CHOP, realizou novo PET de reavaliação, com resposta parcial, diminuição das adenomegalias, com SUV máx: 3,3. Após 6º ciclo CHOP, pacien-

te apresentava-se assintomático, com PET sem captação anômala. Mantido em observação clínica, há 6 meses sem evidência de doença em atividade. **Conclusão:** A doença de Castleman é considerada uma doença linfoproliferativa atípica e, portanto há utilização de variados esquemas de tratamentos, sem uma uniformidade de conduta em diversos serviços. Tratamentos que envolvem anticorpos monoclonais, ácido retinóico, anticorpo anti *IL6*, ganciclovir e esquemas poliquimioterápicos como o VAD vem sido descritos na literatura. A experiência de nosso serviço permitiu concluir que o esquema clássico CHOP pode ser opção terapêutica para pacientes com tratamento prévios e que não atingiram resposta completa, no entanto um maior número de casos é necessário para obtermos maiores conclusões.

0572

Correlação entre os níveis de expressão dos genes *AURKA* e *AURKB* e o perfil citogenético em pacientes com linfoma de células da zona do manto

Alves AP, Lucena-Araujo AR, Silva F, Falcão RP, Oliveira FM

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

O linfoma de células da zona do manto (LZM) é uma doença linfoproliferativa B, caracterizada pela presença da $t(11;14)(q13;q32)$. A consequência molecular desse rearranjo acarreta na hiperexpressão do gene da ciclina D1. Entretanto, o fenótipo da doença está associado à ocorrência de anormalidades cromossômicas secundárias a $t(11;14)$, fato que pode estar associado a um elevado grau de instabilidade genômica. Os genes *AURKA* e *AURKB* desempenham importante papel durante o processo de divisão celular. Em tumores sólidos a hiperexpressão desses genes está associada à presença de cariótipos complexos. Dessa forma, constituem objetivos deste trabalho a avaliação dos níveis de expressão dos genes *AURKA* e *AURKB* e subsequente correlação com parâmetros citogenéticos, em amostras de pacientes com diagnóstico de LZM. Foram utilizadas 25 amostras de LZM, com presença da $t(11;14)(q13;q32)$, identificada por meio do bandamento GTG, e posteriormente confirmada por meio da técnica de PCR em tempo real. A caracterização citogenética das amostras foi também realizada pela técnica de cariótipo espectral (SKY). Amostras de medula óssea e sangue periférico foram utilizados para obtenção do cariótipo, conforme procedimento já utilizado junto ao laboratório. A interpretação e descrição dos achados citogenéticos foi realizada de acordo com o ISCN (2009). Os níveis de expressão de *AURKA* e *AURKB* foram avaliados por meio da técnica de PCR em tempo real, conforme protocolo estabelecido junto ao laboratório. Os achados citogenéticos evidenciaram anormalidades cromossômicas secundárias em 23 pacientes (92%). Em apenas dois pacientes a $t(11;14)(q13;q32)$ foi observada como única anormalidade citogenética. Dentre o perfil de alterações cromossômicas observadas, anormalidades estruturais foram mais frequentes em relação às alterações numéricas (19 e 6 casos, respectivamente), sendo que nos pacientes com anormalidades estruturais 47% apresentaram translocações balanceadas. Anormalidades envolvendo o braço longo do cromossomo 6 (6q) foram observadas em 11 pacientes (44%). A coexistência de anormalidades associadas ao linfoma de Burkitt foi observada em quatro pacientes (16%). Os níveis de expressão dos genes *AURKA* e *AURKB* foi comparada com amostras de sangue periférico de 8 doadores saudáveis. Os Resultados obtidos foram *AURKA* [mean value of $2^{-Ct} \pm SD$]: $2,317 \pm 0,5490$ N=25 vs. $1,106 \pm 0,1687$ N=8, $p < 0,0001$, LZM vs. doadores saudáveis; *AURKB* [mean value of $2^{-Ct} \pm SD$]: $2,765 \pm 0,9807$ N=25 vs. $1,164 \pm 0,1850$ N=8, $p < 0,0001$, LZM vs. doadores saudáveis. Os níveis de *AURKA* e *AURKB* apresentaram-se discretamente mais elevados em amostras de LZM, em relação ao grupo controle. Entretanto, como a maioria dos pacientes selecio-

nados apresentou um perfil citogenético homogêneo, no tocante às anormalidades cromossômicas secundárias é provável que não haja uma correlação bem definida entre os níveis de expressão de aurora kinase e o perfil cariotípico observado. Normalmente os genes *AURKA* e *AURKB* estão hiperexpressos e associados a altos graus histológicos e instabilidade cromossômica em tumores sólidos. Entretanto, será necessário avaliar uma casuística mais representativa, com fins de verificar o verdadeiro papel dos níveis de aurora kinase na manutenção ou não da instabilidade genômica no linfoma do manto.

0573

Perfil epidemiológico dos pacientes com diagnóstico de linfoma MALT atendidos pela disciplina de hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo

Mariano LC¹, Colombo ES¹, Lage LA², Pereira J^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP, SP

² Instituto do Câncer do estado de São Paulo – ICESP, São Paulo, SP

Introdução: Os linfomas da zona marginal extranodal associado às mucosas ou Linfomas MALT são linfomas caracterizados pela presença de células B pequenas e heterogêneas. Há um infiltrado da zona marginal de folículos reativos, que se estende para a zona interfolicular. Os Linfomas MALT compreendem 7-8% dos linfomas de células B e correspondem a 50% dos linfomas primários gástricos. Apresentam curso clínico indolente e disseminação lenta. A recidiva pode ocorrer após diversos anos, com envolvimento de sítios extranodais. O envolvimento da medula óssea ou de múltiplos sítios extranodais não parece conferir um pior prognóstico aos pacientes. Alguns casos podem sofrer transformação para Linfoma Difuso de Grandes Células B. **Objetivos:** Descrever o perfil epidemiológico e clínico dos pacientes com diagnóstico de linfoma MALT atendidos pela disciplina de Hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. **Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo que incluiu todos os pacientes com diagnóstico de Linfoma MALT atendidos pela disciplina de Hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo no período entre 1992 e 2012. Foram avaliados sexo, idade ao diagnóstico, presença de sintomas B, órgão de acometimento primário, presença ou não de invasão medular, estadiamento, taxa de remissão completa, sobrevida livre de progressão e tempo de seguimento. **Resultados:** Foram avaliados 89 pacientes, sendo 49 pacientes do sexo feminino (55%). A mediana de idade ao diagnóstico foi de 57 anos, variando entre 21 e 91 anos. Dentre os sítios de acometimento de linfoma MALT 30,7% dos casos corresponderam a linfoma esplênico, 10,3% a linfoma pulmonar, 33,4% a linfoma gástrico e 25,6% de órbita. Na avaliação de estadiamento 59% dos casos era estágio I de Ann Arbor, seguido por 34% se estágio IV e 6% de estágio II. A presença de sintomas B esteve presente em 31% dos casos e infiltração da medula óssea em 24,6% dos casos. O estágio avançado apresentou correlação com os sítios baço e pulmão ($p < 0,001$), assim como a presença de sintomas B e a infiltração medular ($p < 0,001$). A taxa de remissão completa foi de 77,5%, sendo menos frequente quando o sítio de acometimento é pulmonar ou esplênico ($p = 0,048$). A sobrevida livre de progressão em 5 anos foi de 80%, com um seguimento médio de 5,49 anos (variando entre 2 meses e 19 anos). **Discussão:** Alguns autores afirmam que o surgimento deste tipo de neoplasia seria resultado de uma resposta inflamatória crônica, de processos auto-imunes, imunossupressão ou estímulos infecciosos. Os linfomas MALT são neoplasias associadas às translocações do gene MALT1, como $t(11;18)$, $t(1;14)$ e $t(14;18)$ (1, 2). Assim como na literatura, o trato gastro-intestinal foi o local mais frequentemente acometido pelos linfomas MALT. A maioria dos pacientes apresenta-se com doença em estádios I ou II, embora uma maior quantidade de pacientes

com estágio avançado foi encontrado nos subtipos pulmão e baço. O envolvimento de múltiplos sítios nodais é raro. **Conclusão:** Os linfomas MALT são uma entidade pouco prevalente, contudo, de prognóstico favorável se adequadamente conduzidos. Dada a sua relevância clínica, este tipo de neoplasia deve figurar como importante diagnóstico diferencial na investigação de pacientes.

0574

Linfoma primário de tireóide: relato de caso

Candolo AA, Leal CT, Malta RO, Rabelo YS, Oltramari MR, Arantes AQ, Ramos AF, Madeira MI, Simões BP

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

O linfoma primário de tireóide é extremamente raro, correspondendo a somente 2-8% de todos os tumores malignos da glândula e a apenas 1-2% dos linfomas extranodais. O tipo histológico mais comum é o difuso de grandes células B, seguido pelo linfoma do tecido linfóide associado a mucosa (MALT) e outros linfomas indolentes. É descrita associação deste tipo de linfoma à tireoidite de Hashimoto, principalmente no MALT. Descrevemos o caso de uma paciente de 55 anos que há 2 anos apresentava aumento do volume cervical, sendo diagnosticado hipotireoidismo e iniciado levotiroxina sódica. No entanto, houve aumento progressivo da massa cervical e a paciente evoluiu com sintomas compressivos, como disfagia e dispnéia. Realizado diagnóstico de bócio mergulhante, e a citologia por PAAF indicava presença de células atípicas de significado indeterminado, motivo pelo qual a mesma aguardava pela tireoidectomia. Dois meses após foi admitida na Unidade de Urgência com piora da dispnéia sendo realizado tireoidectomia. No anatomopatológico evidenciou-se alterações morfológicas compatíveis com tireoidite de Hashimoto e Linfoma Não Hodgkin Difuso de Células B. Com o diagnóstico, a paciente foi encaminhada para o serviço de Hematologia, e na primeira consulta ambulatorial apresentava-se em insuficiência respiratória devido a traqueomalácia. Foi, então, submetida a traqueostomia de urgência. No estadiamento do linfoma apresentava doença restrita à glândula tireóide (IBE, IPI 0). Tratada com III ciclos de R-CHOP com resposta completa. No momento encontra-se em tratamento radioterápico cervical e assintomática. Conclui-se que apesar de raro o linfoma primário de tireóide deve ser considerado no diagnóstico diferencial de nódulos tireoidianos. O diagnóstico patológico de forma rápida, através da biópsia, é imperativo para se iniciar o tratamento imediato e evitar complicações locais como a observada neste caso.

0575

Allelic discrimination for single nucleotide polymorphisms in FCGR2A, FCGR3A and C1QA genes using PCR-RFLP and real-time PCR: methodological implications for genotyping assays of genes involved in the clinical efficacy of monoclonal antibody-based therapies

Moraes AB¹, Neto SE¹, Goncalves NP¹, Fernandes RF², Aquino IC², Stefanoff CG¹

¹ Serviço de Pesquisa Clínica/CGTC, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Serviço de Hemoterapia, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) may contribute to cancer susceptibility, modify the extent or severity of the disease or influence the drug response and treatment efficacy. Traditionally, the genotyping of SNPs has been carried out using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-

RFLP). Recently, *TaqMan* real-time PCR using fluorogenic probes was adapted for use in allelic discrimination assays. The SNPs of the *FCGR3A* (CD16A) and *FCGR2A* (CD32A) have been shown to influence the affinity of therapeutic monoclonal antibodies, such as cetuximab and rituximab, to the IgG Fc receptor (FcγR) on the effector cells. In addition, a SNP in the complement component *C1qA* has been proposed to be associated with complete remission of lymphoma patients treated with rituximab. This study compares the accuracy and utility of real-time PCR discrimination assays and PCR-RFLP to assess functional polymorphisms of *FCGR2A*, *FCGR3A* and *C1QA* genes. Genomic DNA from whole blood samples of 91 healthy donors were evaluated. *FCGR2A* c.497A>G (rs1801274; 131H/R), *FCGR3A* c.559A>C (rs396991; 158V/F; 176V/F) and *C1QA* 276A>G (rs172378) were genotyped using PCR-RFLP method using restriction enzymes BstUI, NlaIII, and Hyp188I, respectively and by specific *TaqMan* SNP Genotyping Assays. Ambiguous results were confirmed by direct DNA sequencing. In a fraction of cases, lack of agreement between results of PCR-RFLP and *TaqMan* discrimination assays was observed. Direct sequencing of all the mismatched samples were in accordance with the genotypes determined by real-time PCR. Genotype distribution of the *FCGR2A* rs1801274 showed 131H/H (22%), 131H/R (46%) and 131R/R (32%), while *FCGR3A* rs396991 exhibited 158V/V (18%), 158V/F (38%) and 158F/F (44%). The frequencies of the *FCGR2A* wild-type (wt) allele 497A, and the variant 497G were 0.45 and 0.55, respectively. The frequencies of the *FCGR3A* wt allele 559A, and the variant 559C were 0.63 and 0.37, respectively. For the *C1QA* SNP, 22 donors (25.27%) were AA 25 (27.47%) were GG, and 43 (47.25%) were AG. Allelic frequencies were 0.49 for the *C1QA* 276A allele and 0.51 for the 276G allele. All polymorphisms were in Hardy-Weinberg equilibrium. Our results in a population of healthy donors describe the genotype and minor allele frequencies of genetic variants with therapeutic potential, setting the bases for determination of statistical power when designing case-series studies to test clinical efficacy of therapeutic monoclonal antibodies. We also showed that allelic discrimination using the 5nuclease assay with fluorogenic probes are efficient for high-throughput genotyping of genes recognized as predictive markers. This approach overcomes many of the problematic features associated with PCR-RFLP, including post-PCR manipulation and false allelic identification due to incomplete enzyme digestion. The greater sensitivity, shorter turnaround time and lower technical requirement of the real-time PCR assays make of the method of choice for genotyping functional polymorphisms in large prospective and retrospective studies including cancer patients who received treatment with monoclonal antibodies. **Financial Support:** FAPERJ-PPSUS; FAPERJ-PensaRio

0576

Apresentação incomum de linfoma não-hodgkin linfocítico de partes moles associado a anemia hemolítica auto-imune: relato de caso

Percout PO¹, Dias MA¹, Benevides TC¹, Moura MS¹, Brito JA², Etchebehere M², Pericoli F¹, Delamain MT¹, Lorand-Metze IG¹, Souza CA¹, Vassalo J¹, Pagnano KB¹

¹Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas

²Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas

O linfoma linfocítico de pequenas células/leucemia linfocítica crônica (LLC) é caracterizado pelo acúmulo progressivo de células B com aparência madura e com um imunofenótipo característico (CD5; CD9; CD20 e CD23) presente em sangue periférico, medula óssea, nódulos linfáticos e outros tecidos, sendo raramente encontrado em partes moles. A LLC é frequentemente associada

com fenômenos autoimunes, particularmente com anemia hemolítica autoimune (AHA), encontrada em 5 a 25% dos casos. **Relato de Caso:** paciente de sexo feminino, 60 anos, sem patologia prévia, com história de astenia, tontura, palpitação, dispneia aos mínimos esforços e colúria há 3 semanas da data da admissão em maio/2012. Associado ao quadro paciente referia dor em face posterior de coxa direita que se iniciara há um ano, sem elucidação diagnóstica. Ao exame físico a paciente se apresentava em bom estado geral, icterícia, descorada, taquicárdica (FC: 104 bpm), sem linfonodomegalias palpáveis, aparelho cardiorespiratório sem alteração, abdômen sem massas ou visceromegalias. Presença de tumoração volumosa em parte posterior de coxa à direita. Exames laboratoriais: Hb=5,7g/dL; Ht=19,9%, VCM=100; leucócitos=7600/mm³; plaquetas=460.000/mm³; reticulócitos=4,8%; hiperbilirrubinemia à custa de bilirrubina indireta, aumento de lactato desidrogenase (LDH) e redução de haptoglobina. Coombs direto fortemente positivo e painel de auto imunidade evidenciando anemia hemolítica autoimune mista (IgG e IgM). Realizado Tomografia e Ressonância Magnética de coxa direita sendo visualizado tumoração extensa em região de partes moles posterior de coxa à direita, sugestivo de sarcoma. Tomografia de tórax e abdômen sem outros achados. Foi realizado biópsia incisional da tumoração da coxa direita, cujo resultado foi compatível com Linfoma não-Hodgkin de baixo grau histológico de imunofenótipo B. O perfil imunohistoquímico confirmou o diagnóstico de Linfoma Linfocítico de pequenas células/LLC (CD20, Vimentina e CD23 positivos; CD10, CD38, BCL1, BCL6, kappa, lambda, S100 negativos, mum-1 e Tdt negativos, CD3 e CD5 em pequenos linfócitos de permeio. A biópsia de medula óssea não mostrou infiltração por linfoma. Até a confirmação do diagnóstico, a paciente foi tratada com prednisona 1 mg/kg/dia, porém sem resposta com relação à AHA, sendo associado azatioprina 1,5 mg/Kg/dia com obtenção de resposta parcial. Após o diagnóstico, foi iniciado tratamento quimioterápico com o esquema R-FCM (Rituximabe (375mg/m²), Fludarabina (25 mg/m²), Ciclofosfamida (250 mg/m²) e Mitoxantrone (8mg/m²). Paciente apresentou redução clínica da tumoração de coxa à direita, mas permanece ainda com evidência laboratorial de hemólise. **Conclusões:** no tratamento da AHA secundária ao linfoma linfocítico o tratamento quimioterápico é a base da terapêutica, porém a associação de imunossupressores é muitas vezes necessária para controle da hemólise. A associação de AHA e LLC/ linfoma linfocítico é frequente, porém a apresentação inicial com acometimento unicamente de partes moles é incomum, com raros relatos na literatura. Em uma série de 19 casos de linfoma com acometimento exclusivo de partes moles, apenas 2 casos se tratavam de Linfoma Linfocítico. Essa apresentação é um dos diagnósticos diferenciais com outros tumores de partes moles.

0577

Linfoma primário do sistema nervoso central em imunocompetentes: experiência de um centro Brasileiro

Malta RO, Leal CT, Candolo AA, Rabelo YS, Cunha R, Simões BP

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

O linfoma primário do sistema nervoso central (LPSNC) corresponde à cerca de 4% dos tumores deste órgão. O estudo desta entidade clínica é particularmente importante, pois esta relacionada à grande morbi/mortalidade. Menos prevalente em pacientes imunocompetentes, não existe na população brasileira, relato de estudos que possam detalhar os aspectos epidemiológicos deste grupo de pacientes. O objetivo do estudo foi descrever as características clínicas, demográficas, histopatológicas e terapêuticas em pacientes imunocompetentes com LPSNC tratados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Entre janeiro de 2005 e maio de 2012, 9

pacientes receberam o diagnóstico de LPSNC. A mediana de idade ao diagnóstico foi de 59 anos (29-81 anos), 22% eram do sexo feminino. Quanto ao diagnóstico histopatológico, 55,6% pacientes receberam o diagnóstico de linfoma difuso de grandes células B (LDGCB), 33,3% burkitt-símile, e 11,1% de linfoma T periférico. Em exame de ressonância magnética, 66,7% pacientes apresentaram lesão única (11,1% em região frontal; 22,2% em, corpo caloso, 11,1% em núcleo-capsular, 11,1% em região occipital direita, 11,1% em região parieto-occipital esquerda) e 33,3% dos pacientes apresentaram lesões múltiplas. Não houve invasão meníngea e ocular. Todos pacientes realizaram punção líquórica, e não houve evidência de células monoclonais. Para o tratamento quimioterápico foram utilizados em 66,6% dos pacientes o protocolo publicado por DeAngelis e colaboradores (2002), enquanto que, para 33,3% dos pacientes, o protocolo de Ferreri e colaboradores (2009). A avaliação após tratamento demonstrou remissão completa em 44,4%, resposta parcial em 22,2% dos pacientes e 33,3% foram refratários. Após seguimento de 12 meses, 75% dos pacientes em remissão completa evoluíram sem apresentar recaída da doença, enquanto que 25% evoluíram com recaída e foi optado por protocolo de resgate, seguido de transplante autólogo de medula óssea. Quanto aos pacientes que não atingiram remissão completa, após o tratamento, 40%, continuam em remissão parcial, porém sem sinais de progressão de doença. Dos pacientes considerados refratários, 33,3% destes, foram submetidos à radioterapia de resgate, estando atualmente em remissão parcial e os demais evoluíram com óbito por progressão da doença. Comparados com estudos previamente publicados, nossos Resultados são semelhantes aos disponíveis na literatura, sendo a média de idade do diagnóstico entre 55-65 anos, o sexo acometido mais comumente o masculino, o subtipo histológico mais comum linfoma difuso de grandes células B, geralmente a lesão unifocal e a resposta ao tratamento correspondendo a cerca de 50%.

0578

MLN8237 (ALISERTIB), an investigational selective inhibitor of aurora a kinase, versus investigators choice of pralatrexate or gemcitabine in patients with relapsed/refractory peripheral T-cell lymphoma: a phase 3 study

Chiattoni C¹, Leonard EJ², Billups NK³, Liu H³, Benaim E³

¹ Santa Casa Medical School

² Clinical Research, Millennium Pharmaceuticals, Inc

³ Millennium Pharmaceuticals, Inc.

Peripheral T-cell lymphomas (PTCL) are a rare, aggressive, and heterogeneous group of non-Hodgkin's lymphoma (NHL), accounting for 5–20% of NHL diagnoses. Standard NHL therapies developed primarily for B-cell lymphomas are not optimal for PTCL and early relapse is common. Current treatments for relapsed/refractory PTCL include pralatrexate, gemcitabine, and romidepsin (USA only); however, outcomes remain poor, particularly in patients with more aggressive subtypes. The oral, investigational agent MLN8237 is a potent, selective inhibitor of Aurora A kinase (AAK), a key mitotic regulator that is overexpressed or amplified in various solid tumors and hematologic malignancies, including lymphomas. AAK inhibition leads to mitotic delays and severe chromosome alignment and segregation defects, followed by cell death; as tumor growth and proliferation are highly dependent on mitosis, AAK is an attractive target for cancer therapy. Recent clinical data from a phase 2 study of single-agent MLN8237 in patients with relapsed/refractory NHL, including a subset with aggressive T-cell lymphoma (Friedberg *et al*, ASH 2011), suggested promising antitumor activity and support further clinical evaluation in this indication. C14012 (ClinicalTrials.gov ID: NCT01482962; EU Clinical Trials Register ID: EUCTR2011-003545-18) is an ongoing phase 3, randomized, open-

label, international trial evaluating MLN8237 compared to single-agent treatment with pralatrexate or gemcitabine (or, in the USA only, romidepsin) in patients with relapsed or refractory PTCL. In this study, a maximum of 354 adults will be enrolled at approximately 185 centers in at least 29 countries worldwide, including in South American countries. Patients are required to have relapsed/refractory PTCL (excluding cutaneous-only disease) after 1 or more prior systemic cytotoxic therapies, with measurable disease and Eastern Cooperative Oncology Group performance status 0–2. Patients are randomized (1: 1) to MLN8237 50 mg twice daily as 10-mg enteric coated tablets on days 1–7 of 21-day cycles, or investigator's choice of: pralatrexate 30 mg/m² IV once weekly for 6 weeks in 7-week cycles; gemcitabine 1000 mg/m² IV on days 1, 8, and 15 of 28-day cycles; or (US only) romidepsin 14 mg/m² IV on days 1, 8, and 15 of 28-day cycles. Patients with disease response or stabilization may continue treatment for up to 2 years provided that clinical benefit is demonstrated and treatment is tolerable. The expected study duration is 54 months. The primary endpoints are overall response rate (complete response [CR] + partial response) and progression-free survival according to the International Working Group criteria (Cheson *et al.*, 2007). The key secondary endpoints are CR rate and overall survival; other secondary endpoints include time to progression, time to response, duration of response, time to subsequent antineoplastic therapy, safety and tolerability, and quality of life as evaluated using the Functional Assessment of Cancer Therapy–Lymphoma (FACT-Lym) instrument for functioning and symptoms. Exploratory health economic assessments include the Treatment Satisfaction Questionnaire for Medication and EQ5D-5L patient-reported outcome instrument. The study is currently enrolling patients. Disclosure information: E.J.L., N.K.B., H.L., E.B.: employment, Millennium Pharmaceuticals, Inc.

MIELOMA MÚLTIPLO

0579

Mieloma múltiplo em paciente jovem: relato de caso

Almeida LL, Almeida AM, Brun LV, Premaor MO

Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS

Introdução: O mieloma múltiplo (MM) é uma doença caracterizada por múltiplos clones de células B, havendo um aumento de plasmócitos na medula óssea. Múltiplas mutações genéticas e mudanças no micro-meio-ambiente da medula óssea levam a transformações dessas células que evoluem para uma doença maligna. Dentre as neoplasias hematológicas malignas mais comuns, o MM é a 2ª mais prevalente na população idosa, sendo a idade média do diagnóstico de 61,5 anos, existindo apenas 2% dos casos confirmados da doença em pacientes jovens com idade inferior a 40 anos. **Relato de Caso:** Relato de um caso de MM diagnosticado no Hospital Universitário de Santa Maria. M.P.A., 18 anos, sexo masculino. Iniciou com dor lombar há 2 meses antes da consulta. Apresentava dor retroesternal, hematúria, epistaxe e sangramento gengival. Havia emagrecido 10kg em 2 meses. O quadro era acompanhado por astenia, anorexia, sudorese, calafrios e diplopia. Ao exame, M.P.A. encontrava-se em regular estado geral, descorado e prostrado. Os linfonodos eram palpáveis nas regiões axilares, inguinais e supraoccipitais. Ele apresentava nódulos em crânio, que mediam aproximadamente 2cm na região frontal e 1,5cm em região occipital, e estrabismo convergente à esquerda. Havia tumorações pétreas de aproximadamente 8cm na borda esternal esquerda e região mamária. O baço era palpável no rebordo costal esquerdo e o fígado a 2cm abaixo do rebordo costal direito. Nos exames laboratoriais verificaram-se alterações na Creatinina

Sérica 2,2mg/dL, Uréia Sérica 47,0mg/dL, PCR 3,65mg/dL, Ca 12mg/dL, Albumina Sérica 1,9g/dL, Hemoglobina 8,1g/dL, Hematócrito 23,3%, Leucócitos 6820/mm³. Eletroforese de proteínas com valores: Proteínas totais 10,4g/dL, Albumina 3,02g/dL, Globulina Alfa-1 0,47g/dL, Globulina Alfa-2 0,76g/dL, Globulina Beta 20g/dL, Globulina Gama 0. Na US abdominal mostrou-se aumento dos rins acima de 12cm, apresentando infiltração difusa, hepatomegalia e moderada quantidade de líquido livre na pelve. Foi realizado mielograma que mostrou 32% de plasmócitos. Para o tratamento da hipercalcemia foi aplicado 90mg de pamidronato EV. Foi realizada a RM de encéfalo 2 dias após a internação que apresentou múltiplas lesões em ossos do crânio e da face, algumas insuflantes, a maior junto da parede lateral e superior da órbita esquerda que determinou o deslocamento inferior, medial e anterior do globo ocular. Há também lesões que causaram uma leve compressão do seio sagital superior. O paciente iniciou com talidomida e dexametasona e recebeu alta em regular estado geral. Após 5 meses, ele retornou com perda de força e de sensibilidade em membros inferiores e retenção urinária aguda. Foi realizado exame neurológico que evidenciou nível sensitivo em raiz nervosa correspondente a 3ª vértebra lombar. Sua força em membros inferiores foi graduada em II/III. O paciente apresentava também hiperreflexia e reflexo cutâneo-plantar em extensão. A TC de coluna tóraco-lombar mostrou múltiplas lesões osteolíticas, difusas nos corpos vertebrais. Ao nível de L4, invasão do canal raquiano principalmente à esquerda com comprometimento também da bacia, sendo indicada radioterapia. **Conclusão:** Este relato é de suma importância para salientar que, apesar de rara, esta doença não pode ser desconsiderada na população jovem. Muitas vezes o diagnóstico do MM pode passar despercebido em pacientes jovens, sendo apenas diagnosticado em uma fase tardia desta patologia.

0580

Determinação dos principais diagnósticos de enfermagem na assistência ao paciente portador de mieloma múltiplo em um Hospital Universitário de Recife, PE

Cabral JR, Mercês AA, Carvalho QG

Departamento de Enfermagem, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE

Introdução: O mieloma múltiplo (MM) caracteriza-se por expansão clonal plasmocitária na medula óssea e produção de imunoglobulina monoclonal ou policlonal, promovendo progressivamente destruição óssea, falência renal, supressão da hematopoese e infecções. Tem como principal manifestação clínica a destruição óssea e consequente hipercalcemia plasmática. É uma doença progressivamente debilitante. Representa 1% de todas as neoplasias malignas, sendo a segunda neoplasia hematológica mais comum. A sistematização da assistência de enfermagem (SAE) garante ao cliente uma assistência que atende as suas necessidades, por meio de uma visão holística e individual. A atuação do enfermeiro na atenção ao portador de MM é imprescindível, pois ele planeja a assistência, elabora intervenções para minimizar o sofrimento, proporciona atendimento e acompanhamento individualizado, de acordo com as necessidades do paciente e atua de forma contínua no tratamento, buscando a qualidade de vida e alívio dos sintomas. **Objetivos:** Identificar os principais diagnósticos de enfermagem em pacientes portadores de MM. **Métodos:** Estudo descritivo realizado durante a experiência da prática curricular na clínica médica de um Hospital Universitário na cidade do Recife-PE, no período de abril a junho/2012. Foram utilizadas as taxonomias de *North American Nurses Diagnosis Association* (NANDA-I) para a elaboração dos principais diagnósticos de enfermagem (DE). **Resultados:** Os DE são o foco clínico da ciência de enfermagem. Eles foram traçados de acordo com

os problemas e necessidades mais comuns identificados durante a assistência ao portador de MM. A NANDA-I consiste em uma taxonomia diagnóstica que possui título, definição, fatores relacionados –causas- e características definidoras, que possibilitam o desenvolvimento e refinamento dos DE. Os seguintes DE foram identificados: Deambulação prejudicada relacionada à fraqueza e diminuição da amplitude de movimentos evidenciado por limitação na marcha/ destruição óssea secundária ao MM; Intolerância a atividade física relacionada à fraqueza evidenciado por relato e/ou demonstração de fadiga; Estilo de vida sedentário relacionado à fadiga e fraqueza; Risco para infecção relacionado à imunossupressão secundária a manifestação clínica de MM; Risco de quedas relacionado à anemia e fadiga; Risco para integridade da pele prejudicada relacionado a deambulação prejudicada pela destruição óssea secundária ao MM; Risco para distúrbio de autoconceito/autoimagem e autoestima e Risco para lesão tissular relacionado a mobilidade alterada por lesões ósseas secundária ao MM. **Conclusão:** Diante do exposto, fica evidente a importância da identificação dos principais diagnósticos de enfermagem a fim de realizar intervenções sistemáticas direcionadas ao problema enfrentado. Percebe-se que a SAE, enquanto processo organizacional, é capaz de oferecer subsídios para o desenvolvimento de Métodos interdisciplinares e humanizados de cuidado. Os DE são apenas uma parte da SAE, sendo necessário que todo o processo de enfermagem seja implementado para um cuidado adequado. Vale ressaltar que a atividade diagnóstica aproxima o enfermeiro de seus clientes, permitindo-lhe conhecer melhor as respostas físicas e emocionais do paciente, o que é essencial para a melhora da qualidade e humanização da assistência.

0581

Cancer/testis antigens *MAGE-C1/CT7* and *MAGE-C2/CT10* are expressed in 90% of multiple myeloma samples and can be explored in combined immunotherapy for this malignancy

Alves VL, Braga VM, Jr CVX, Colleoni GW, Carvalho F

Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Background: Multiple Myeloma (MM) is a malignant proliferation of B-cells with plasma cell differentiation. Vaccines formulated with antigens associated with myeloma cells can instruct the immune system to eliminate malignant cells. Can/Testis Antigens (CTAs) tumor-associated antigens are identified in several human malignant neoplasms and in normal testis, fetal ovary and trophoblast cells. *MAGE* CTA genes are recognized by CTL (cytotoxic T cell) and are strictly tumor-specific. *MAGE-C1/CT7* and *MAGE-C2/CT10* are highly immunogenic and both CTAs have been previously shown in various human tumors, suggesting its potential role to evoke both humoral and cellular immune responses. **Objective:** We evaluated *MAGE-C1/CT7* and *MAGE-C2/CT10* expression in bone marrow (BM) aspirates collected from patients with MM, solitary plasmacytomas, MGUS (monoclonal gammopathy of undetermined significance) and normal controls to evaluate potential combination of CTA genes for immunotherapy in this disease by RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction). **Methods:** BM aspirates from 20 MM patients [30% ISS (International Staging System) stage 1-2 and 70% stage 3], five solitary plasmacytomas, four MGUS and five normal BM aspirates. RNA was prepared from total BM aspirates using TRIzol, followed by synthesis of cDNA with SuperScript III, according to the manufacturer's instructions. *MAGE-C1/CT7* and *MAGE-C2/CT10* were analyzed by RT-PCR and 2% agarose gel electrophoresis and visualized by Sybr Safe. **Results:** *MAGE-C1/CT7* was positive in 75% (15/20) and *MAGE-C2/CT-10* in 70% (14/20) of MM cases. In 11 out of 20 MM cases (55%), both CTAs were positive and in 18 out of 20

samples (90%) the expression of at least one of the genes could be detected by RT-PCR. In the other monoclonal gammopathies (solitary plasmacytomas and MGUS), *MAGE-C1/CT7* and *MAGE-C2/CT10* were expressed in at least one of the analyzed cases. All BM aspirates collected from healthy donors were negative for both CTAs evaluated, showing restricted expression of these genes in monoclonal gammopathies. Considering the International Staging System (ISS), the data show that expression of both CTA genes were widely expressed in MM samples studied, independently on the stage of disease. **Conclusions:** These findings suggest that both *MAGE-C1/CT7* and *MAGE-C2/CT10* CTA genes can have a biological role in MM distinct clinical phases and maybe contribute to malignant plasma cell development. The high frequency found in MM patients suggests that the subfamily of *MAGE-C* has a role on the development of myeloma. Although the function of these genes is still poorly understood, several studies have shown that *MAGE-C1/CT7* and *MAGE-C2/CT10* genes are able to elicit spontaneous immune responses; therefore they can be considered potential targets for cell therapy in this incurable disease. Supported by FAPESP (2010/17668-6).

0582

Frequência dos rearranjos genômicos identificados por FISH e CIG FISH em pacientes portadores de mieloma múltiplo

Lira JB, Chauffaille ML

Grupo Fleury, São Paulo, SP

Mieloma múltiplo (MM) é doença neoplásica caracterizada pela proliferação de clone de plasmócitos na medula que secretam imunoglobulina monoclonal no soro ou na urina. A doença tem espectro clínico que varia desde assintomático a formas agressivas. Os plasmócitos do MM podem apresentar alterações genéticas e citogenéticas complexas, que podem ser reconhecidas como marcadores biológicos relacionados aos diferentes subgrupos da doença e conferem prognóstico. Assim, o cariótipo está indicado ao diagnóstico, e apresenta anormalidades por volta de 20 a 50% dos casos, devido ao baixo índice mitótico dos plasmócitos. A FISH por sua vez permite ampliar a taxa de detecção seja por investigar genes relacionados que podem estar amplificados e deletados ou por detectar rearranjos específicos. Os principais genes relacionados nessa neoplasia são: *IgH*, *RB1*, *TP53*, *CCND1*, *MAF*, *MAFB* e *FGFR3*. As translocações envolvendo o gene *IgH* são eventos iniciais e fundamentais na patogênese do MM. A presença de duas ou mais translocações de *IgH* são eventos raros e não está clara a relação entre o acúmulo de translocações e a progressão da doença. O cIgFISH caracteriza-se por permitir a identificação do plasmócito ao marcar simultaneamente a cadeia leve kappa ou lambda e os genes investigados. O objetivo deste trabalho foi avaliar a frequência dos rearranjos genômicos encontrados por FISH e cIg FISH em pacientes com MM. Foram estudados 32 casos, ao diagnóstico, no período de janeiro a julho de 2012. Foram feitas reações de FISH após separação de células por microesferas CD138+ e cIg FISH (combinação da técnica de FISH com a marcação citoplasmática por meio de anticorpos fluorescentes – *Kappa* e *Lambda*). As regiões pesquisadas foram: *IgH/FGFR3*, *IgH/MAF*, *IgH/CCND1*, *MYB*, *CEP 12*, *ATM*, *IGH*, *TP53*, *RB1* e *LAMP1*. A idade mediana dos pacientes foi de 59,7 e houve prevalência de indivíduos do sexo masculino (19/13). Foi possível a detecção de anormalidades em 25 casos (78,12%); quatro (12,5%) apresentaram-se normais para as regiões pesquisadas e em três (9,37%) não foi possível a realização do FISH devido à escassez de plasmócitos na amostra medular. A pesquisa das translocações *IGH/FGFR3* foi positiva em quatro casos (12,5%) e a *IGH/CCND1* em três (9,37%). Em oito casos (25%), foi detectada a

presença de um clone hiperdiploide e em outros oito um clone hipodiploide. Dois casos (6,25%) apresentaram rearranjo no gene *IgH*, sugerindo translocação com um outro gene não pesquisado. O gene *RB1* apresentou-se deletado em 13 casos (40,62%). Este estudo evidencia que a associação do FISH e *clgFISH* amplia a taxa de identificação de alterações genômicas.

0583

Analysis of the immune system of multiple myeloma patients achieving long-term disease control by multidimensional flow cytometry

Magalhães RJ¹, Vidriales M², Paiva B², Fernandez-Gimenez C³, Mateos M², Nucci M¹, Maiolino A¹, Costa ES¹, San-Miguel JF², Orfao A³

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

² Hospital Universitario de Salamanca, Universidad de Salamanca, Spain

³ Centro de Investigación del Cáncer (CIC, IBMCC USAL-CSIC)

Background: Multiple myeloma remains largely incurable. However, a few patients experience ≥ 10 -years relapse-free survival and can be considered as operationally cured. Interestingly, long-term disease control in multiple myeloma is not restricted to patients with complete response, since some revert into an MGUS profile. Design and **Methods:** We compared the distribution of multiple compartments of lymphocytes and dendritic cells in the bone marrow and peripheral blood of long-term disease control multiple myeloma (n=28) vs. both newly-diagnosed MGUS (n=23) and symptomatic multiple myeloma (n=23), and age-matched healthy adults (n=10). **Results:** Similarly to MGUS and symptomatic multiple myeloma, patients with long-term disease control showed an expansion of cytotoxic CD8+T-cells and NK-cells. However, bone marrow Tregs were reduced in long-term disease control vs. symptomatic multiple myeloma. Noteworthy, B-cells were depleted in MGUS and symptomatic multiple myeloma, while recovered in long-term disease control patients in both bone marrow and peripheral blood, due to an increase in normal bone marrow B-cell precursors and plasma cells, as well as pre-germinal center peripheral blood B-cells. The number of bone marrow dendritic cells and tissue macrophages significantly differed between long-term disease control and symptomatic multiple myeloma with a recovery trend in the former patient population towards levels similar to those found in healthy adults. **Conclusions:** In summary, our results indicate that long-term disease control multiple myeloma patients have a constellation of unique immune changes favoring both immune cytotoxicity and recovery of B-cell production and homing, suggesting an improved immunosurveillance. **Keywords:** myeloma, long term follow-up, immunosurveillance, T-cells, Tregs, B-cells

0584

Mieloma múltiplo: avaliação do protocolo CTD como terapia de primeira linha

Amaral SN, Bittencourt RI, Oliveira MM, Furlanetto MA, Breunig RC, Weber CS, Daudt LE

Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

Introdução: Mieloma Múltiplo (MM) é a neoplasia maligna de células plasmáticas. Representa 10% das neoplasias hematológicas, em uma incidência anual de, aproximadamente, 4 casos/100.000 hab. A idade média de apresentação é 66 anos e, em 2% dos casos, a doença é diagnosticada em indivíduos com idade inferior a 40 anos. Apesar dos avanços terapêuticos nos últimos anos, o MM ainda é considerado incurável. Para pacientes com menos de 65

anos e sem comorbidades impeditivas, quimioterapia de indução seguida por Transplante Autólogo de Células Tronco Hematopoéticas (TACTH) é o tratamento de escolha. No Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), adotamos o Protocolo CTD (Ciclofosfamida, Talidomida, Dexametasona) como terapia de primeira linha em fevereiro de 2010. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a taxa de reposta obtida com tal protocolo no tratamento de primeira linha do MM. **Métodos:** Foram analisados dados de prontuário de 17 pacientes com até 65 anos de idade, diagnosticados com MM no período de 01 de fevereiro de 2010 a 31 de janeiro de 2012 e tratados com o Protocolo CTD como terapia de primeira linha. **Resultados:** A média de idade dos pacientes foi de 53,1 anos (DP+/-8,14), sendo 58,8% do sexo masculino. Do total de 17 pacientes, 15 (88,2%) foram classificados como estágio IIIA (Durie & Salmon). A maioria (64,7%) apresentava doença de cadeias leves. Resposta quase completa (RqC) foi atingida em 82,35% dos casos. Em média, foram necessários 5,78 ciclos (DP+/-0,42) para se atingir tal resposta. Um paciente (5,8%) obteve resposta completa e dois (11,6%) atingiram resposta parcial após quatro ciclos. Doze (70,6%) pacientes realizaram coleta de células tronco hematopoéticas no período do estudo. A média de células CD34/Kg (baixa resolução, conforme rotina do Laboratório de Hematologia do HCPA) coletadas foi de 2,69 x 10⁶(DP+/-1,48). Com relação aos efeitos adversos, quatro pacientes (23,5%) apresentaram neuropatia periférica e um (5,8%) apresentou episódio de arritmia. **Conclusão:** Na amostra analisada, o Protocolo CTD induziu resposta necessária para o TACTH na grande maioria dos pacientes (88,2%). Além disso, o uso do agente alquilante Ciclofosfamida não interferiu negativamente na coleta de células tronco hematopoéticas.

0585

Plasmocitoma extramedular vesical: relato de caso

Satake M, Vargas APML, Franco MI, Bigonha J, Justo AP, Figueiredo VL

Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo – IAMSPE, São Paulo, SP

Plasmocitoma é uma neoplasia de linfócitos B que se apresenta, em menos de 5% dos casos, como tumor localizado associado ao quadro clínico do Mieloma Múltiplo. Raramente, em cerca de 3% dos casos, apresenta-se como ocorrência isolada, sem o comprometimento sistêmico. Os sítios isolados mais frequentes, citados na literatura, são: cabeça, pescoço, trato respiratório superior, trato gastrointestinal. Excepcionalmente acomete sistema nervoso central, tireóide, mama, testículos, parótidas, linfonodos e bexiga. Neste caso, a manifestação inicial é hematuria maciça, indolor. A investigação consiste em urocultura, ultrassonografia renal e de vias urinárias, cistoscopia e biópsia da lesão suspeita. A paciente M.C.C.S., 59 anos, negra, casada, brasileira, nat. Paraguaçu Paulista SP, aposentada, apresentou queixa inicial de incontinência urinária há 1 mês, urina avermelhada, indolor, com odor desagradável há 3 meses, perda ponderal de 30Kg em 1 ano. Apresentava anemia hipocromica/microcítica, urocultura negativa, urina I com hematuria e leucocitúria intensas, creatinina sérica =1,3mg/dl, uréia=39mg/dl. Foram realizados exames complementares de investigação e constatados: na cistoscopia - mucosa vesical com aspecto inflamatório infiltrativo em assoalho. Biópsia vesical - laudo anátomo-patológico: parede de bexiga urinária com infiltração plasmocítica associada a ulceração e proliferação de tecido de granulação. Exame Imunopatológico: RxK 10.200 RA- negativo; RxL 1: 3000 S/T-positivo; RxIgM 1: 1000 RA-negativo; RxIgG 1: 2000 RA-positivo; MxLCA 1: 600 S/T positivo; Mx AE1/AE3 1: 400 RA negativo; MxCD79a 1: 300 RA positivo; MxCD20 1: 500 RA negativo; MxCD3 1: 100 RA negativo. O quadro imuno-histológico é de proliferação plasmocitária

monoclonal sugestiva de plasmocitoma extramedular na dependência de correlação anátomo-clínica e radiológica. Tomografia computadorizada de abdomen e de pelve: espessamento da parede vesical difusa. Realizados pielografia ascendente bilateral e teste do azul, sem alterações sugestivas de fístulas. Uretrocistografia miccional: refluxo vesico-ureteral bilateral. Para investigação de gamapatia sistêmica associada foram realizados os seguintes exames: IgA=310,9mg/dl, IgG=2143mg/dl, IgM=240,4mg/dl, β 2microglobulina=3636ng/ml, VHS=120mm/h, eletroforese de proteína do soro: PT=7,5g/dl Alb=3,1g/dl α 1=0,3g/dl α 2=0,9g/dl β globulina=1,0g/dl γ globulina=2,2g/dl, sem pico monoclonal. Biópsia de medula óssea: Medula óssea com 25% de tecido hematopoiético, hipocelular nos 3 setores com maturação e proporcionalidade entre as séries preservadas, livre de comprometimento neoplásico. A reticulina tem padrão normal. Ferro, sob a forma de hemossiderina, tem padrão normal. Mielograma: amostra de medula óssea hiperclular para idade, com hiperplasia eritróide, ausência de plasmocitose. Cadeias leves na urina de 24h: κ =151 mg/l λ =56mg/l relação κ/λ =2,696. A avaliação da Nefrologia concluiu como disfunção renal secundária ao Diabetes mellitus. Como conduta terapêutica, a paciente foi submetida a 25 sessões de radioterapia associada à administração de corticosteroide, via oral, com regressão da lesão vesical e melhora parcial da hematúria, em acompanhamento clínico de 2 anos até a data do presente relato.

0586

Síndrome poems com hipertensão portal idiopática: relato de caso

Yamakawa PE, Bezerra ED, Martinez GA

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: A síndrome POEMS é uma rara síndrome paraneoplásica causada por uma desordem de células plasmocitárias. Seu acrônimo refere-se a polirradiculoneuropatia, organomegalia, endocrinopatia, componente monoclonal e acometimento de pele; porém engloba diversas outras manifestações clínicas, sendo que seu diagnóstico pode ser um desafio. **Objetivo:** Relatar caso de homem com hipertensão portal cujo diagnóstico foi síndrome de POEMS. **Relato de Caso:** Paciente masculino de 52 anos, previamente hígido, foi internado no nosso serviço para investigação de quadro clínico caracterizado por início de parestesia, dor em membros inferiores e perda progressiva de força muscular há sete anos. Há 5 anos passou a apresentar ascite, edema de membros inferiores, ginecomastia e perda ponderal de 15 kg. Diagnosticado deficiência de vitamina B12 e realizada reposição, sem melhora do quadro neurológico. Exames iniciais para investigação, que incluíam USG de abdômen e endoscopia digestiva alta, demonstraram hepatoesplenomegalia e sinais de hipertensão portal, caracterizada como idiopática, já que exames laboratoriais, sorológicos, radiológicos e biópsia hepática não foram elucidativos para a etiologia. Eletroforese de proteínas sérica demonstrou pico monoclonal em gama de 1,3, com imunofixação positiva para IgG lambda, mielograma realizado mostrando 10% de plasmócitos. Dosagem de VEGF aumentada, de 238 pg/ml. Apresentava adicionalmente lesão osteosclerótica sacral, papiledema e hipogonadismo. Realizado diagnóstico de síndrome de POEMS e iniciado tratamento específico com ciclofosfamida e dexametasona. **Discussão:** A síndrome POEMS apresenta envolvimento de diversos órgãos e pode manifestar-se de formas clínicas variadas. O acometimento hepático visto nessa síndrome geralmente caracteriza-se por hepatomegalia. Hipertensão portal é incomum, sendo relatados na literatura somente três casos em pacientes com síndrome POEMS. A patogênese ainda não é clara, acreditando-se que anormalidades na coagulação vistas nessa síndrome podem contribuir para trombose, e elevação de

VEGF e citocinas inflamatórias podem induzir resposta inflamatória e fibrose de vênulas portais. Relatamos um caso de hipertensão portal como manifestação extremamente rara associada a síndrome POEMS.

0587

Síndrome Poems: série de casos e revisão da literatura

Kerbauy LN, Scanhola GQ, Yamakawa PE, Medina AB, Martinez GA

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: A síndrome de POEMS é uma rara doença paraneoplásica associada à proliferação de células plasmocitárias clonais. O acrônimo POEMS refere-se a seus principais achados clínicos: polirradiculoneuropatia, organomegalia, endocrinopatia, componente monoclonal e acometimento de pele. Entretanto, existem várias outras alterações descritas na literatura que podem estar relacionadas à doença. **Objetivo:** Relatar os casos de síndrome de POEMS acompanhados no Serviço de Hematologia do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP) e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). **Métodos:** De 2006 a julho de 2012, foram levantados por consulta em prontuário médico os dados de 11 pacientes com diagnóstico de síndrome de POEMS acompanhados no serviço. Os diagnósticos realizados foram baseados nos critérios propostos por Dispenzieri. **Resultados:** Observou-se a prevalência do sexo masculino, encontrando-se 9 homens e 2 mulheres. A idade média ao diagnóstico foi de 52,7 anos, variando de 33 a 74 anos. As manifestações clínicas foram variadas, destacando-se neuropatia periférica, observada em todos os pacientes, lesões osteoescleróticas (9/11), presença de imunofixação sérica positiva (9/11), com predomínio de IgG lambda (4/11), organomegalia (9/11), endocrinopatia (9/11), alterações cutâneas (9/11), serosites (5/11) e perda ponderal (5/11). Outras manifestações encontradas incluíam papiledema, trombocitose, hipertensão pulmonar e deficiência de vitamina B12. Destes pacientes, 4 foram tratados com radioterapia + quimioterapia sistêmica, um somente com radioterapia, 4 somente com quimioterapia, e 3 pacientes realizaram transplante de medula óssea autólogo. Somente um paciente teve complicação significativa com a terapêutica, apresentando mielotoxicidade e choque séptico. Houve um óbito. Três pacientes tiveram remissão completa e os demais, resposta parcial. O tempo médio de seguimento destes pacientes foi de 30 meses. **Discussão:** A Síndrome de POEMS apresenta-se com um conjunto de achados clínicos e laboratoriais diversificados. Os achados observados na nossa casuística foram semelhantes ao que é descrito na literatura, excetuando-se a Doença de Castleman, que não foi encontrada em nenhum de nossos pacientes. O tratamento oferecido aos nossos pacientes foi diversificado e incluiu radioterapia, associado ou não a quimioterapia sistêmica, e transplante de medula óssea autólogo. A avaliação de resposta ainda é dificultada pela ausência de um marcador específico da doença; apesar de estudos recentes sugerirem a correlação de dosagem de VEGF com atividade da doença, este exame ainda não é disponível em muitos centros. Ressaltamos a importância de avaliação clínica detalhada e exame físico cuidadoso destes pacientes, já que o diagnóstico precoce e tratamento adequado são as medidas mais importantes para o manejo e redução de complicações presentes nesta doença.

0588

Analysis of protein profile expressed on the membrane surface of plasma cells, stromal cells and mononuclear cells from bone marrow microenvironment of multiple myeloma patients by mass spectrometry

Carvalho F¹, Leme AF², Matsuo AL³, Matsuda SS¹, Tobias WM¹, Chauffaille ML¹, Colleoni GW¹

¹ *Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP*

² *Laboratório de Espectrometria de Massas, Laboratório Nacional de Biociências, CNPEM/ABTLuS, Campinas, SP*

³ *Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Disciplina de Biologia Celular, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP*

Introduction: Multiple Myeloma (MM) is a malignant proliferation of B-cells with plasma cell differentiation. Interactions of plasma cells with stromal cells and other cells in bone marrow (BM) microenvironment are responsible for progression of MM. **Objective:** Screening of proteins expressed on the membrane surface of plasma cells, stromal cells and mononuclear cells from MM patients by mass spectrometry (MS) to identify new prognostic and therapeutic targets in this incurable disease. Patients and **methods:** BM from eight MM patients, five normal BM from donors and seven tonsils of children submitted to tonsillectomy (controls) were collected. Plasma cells (CD138+) from MM patients and tonsils and stromal cells (CD105+) from MM and normal patients were isolated by magnetic cell sorting (MACS). Mononuclear cells from MM patients and normal BM were obtained from the sorting flow through. Stromal cells were *in vitro* expanded and characterized by immunocytochemistry and flow cytometry (CD105, Vimentin, CD45 and cytokeratin [CK]). Proteins were obtained by Pierce Cell Surface Protein Isolation kit and quantified by Pierce 660nm Protein Assay. Results and **Conclusion:** The *in vitro* expansion of stromal cells was possible for four MM and four normal BM samples. Stromal cells were CD105+, Vimentin+, CD45- and CK-, without contamination with other cell types. Plasma cells pool from MM patients or tonsils (control), stromal cells pool and mononuclear cells pool from MM patients or normal BM (control) were submitted to protein extraction (ranged from 30µg to 100µg). Analysis of proteins will be performed in August 2012 by LTQ (linear ion trap quadrupole) Orbitrap Velos Mass Spectrometry and the spectra MS/MS will be obtained using Mascot. The differentially expressed proteins on the membrane surface of plasma cells and stromal cells will be compared to their respective controls. We expect to identify candidates for development of new strategies to specifically target-cell therapy in MM. Supported by FAPESP (2010/17668-6).

0589

Incidência de trombose venosa profunda em pacientes com mieloma múltiplo tratados com talidomida

Freitas LF, Melo AL, Neto JV, Silveira CA, Nonino A, Daldegan MB, Cals MC, Pol CF

Hospital de Base do Distrito Federal – HBDF, Brasília, DF

Introdução: A talidomida (Thal) como terapia efetiva no mieloma múltiplo (MM) foi amplamente empregada na última década, tanto no tratamento de indução em pacientes com o diagnóstico recente, como na doença avançada. Porém, sua associação com eventos tromboembólicos quando combinada a outros agentes é relevante. Não há consenso quanto à melhor profilaxia antitrombótica a ser adotada, e as condutas variam amplamente entre os hematologistas. **Objetivos:** Correlacionar a incidência de trombose

venosa profunda (TVP) em pacientes com MM com o tratamento baseado em Thal (em diferentes associações). Verificar a relevância de diversas formas de profilaxias (aspirina, warfarina ou heparina de baixo peso molecular- HBPM) na prevenção de TVP para estes pacientes. **Métodos:** Estudo retrospectivo com análise de prontuário de 89 portadores de MM acompanhados no Distrito Federal no período de 01 de janeiro de 2006 a 31 de maio de 2012. Foram selecionados os pacientes que utilizaram Thal isoladamente, Thal associada a melfalan e prednisona (MPT) ou Thal e dexametasona (Dexa-Thal). O Teste Exato de Fisher foi empregado para avaliar a correlação entre a incidência de TVP e os diferentes tratamentos, bem como com a profilaxia adotada para cada caso. **Resultados:** Dos 89 pacientes, 44,4% (40 pacientes) eram do sexo masculino e 55,6% (49 pacientes) do sexo feminino, com mediana de idade de 65 anos. A maioria (60,7%) foi submetida a tratamento com Dexa-Thal; 36% realizou tratamento com MPT e somente 03 pacientes realizaram tratamento com Thal isoladamente. A incidência de TVP foi de 25,8% (23 pacientes), com maior prevalência no grupo tratado com Dexa-Thal (19 pacientes – 82,6%), com significância estatística ($p=0,029$). A incidência de TVP não foi influenciada pela distribuição de acordo com o sexo ($p=0,8$) ou com a idade > 65 anos ($p=0,14$). Quanto à profilaxia de eventos trombóticos, a principal medicação utilizada foi a aspirina (44,9%), seguida pela warfarina (14,6%) e HBPM (3,4%). Nenhuma profilaxia foi adotada em 37,1% dos casos avaliados. Dentre os submetidos a tratamento com Dexa-Thal (54 pacientes), 50% recebeu profilaxia antitrombótica com aspirina, 16,7% com warfarina e 5,6% com HBPM; quinze pacientes não receberam nenhuma profilaxia (27,7%). Nesse grupo, a incidência de trombose foi de 73,3%, versus 10,2% no grupo que recebeu profilaxia antitrombótica, com $p=0,041$. **Discussão:** O mecanismo pelo qual a Thal aumenta o risco de incidência de eventos trombóticos ainda não foi completamente esclarecido. Quando utilizada isoladamente, a incidência de TVP não ultrapassa 1%, podendo chegar a 20% quando a Thal é associada a dexametasona ou a doxorubicina. É importante avaliar a presença de outros fatores de risco, tais como trombose prévia, doença cardiovascular, restrição ao leito. De acordo com a literatura, a aspirina é eficaz na profilaxia antitrombótica em pacientes de baixo risco, mas os pacientes de alto risco beneficiam-se da profilaxia com HBPM ou da anticoagulação com warfarina. Nesse estudo, houve significativa associação entre a incidência de TVP e tratamento com Dexa-Thal, especialmente no grupo de pacientes em que não foi utilizada nenhuma profilaxia. **Conclusão:** A associação de Thal a dexametasona aumenta significativamente a incidência de TVP e o uso de profilaxia é capaz de reduzir o número de eventos em até 63%.

0590

Variante Castleman da Síndrome De Poems

Mariano LC¹, Carvalho PD¹, Lage LA², Pereira J^{1,2}

¹ *Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FM-USP, SP*

² *Instituto do Câncer do estado de São Paulo – ICESP, São Paulo, SP*

Introdução: POEMS é uma síndrome paraneoplásica rara que se caracteriza por polirradiculoneuropatia, organomegalia, incluindo co-existência de Doença de Castleman, endocrinopatia, pico monoclonal e alterações cutâneas próprias. Outras características importantes incluem presença de papiledema, sobrecarga de volume extravascular, lesões ósseas escleróticas, trombocitose, poliglobulia, aumento de VEGF sérico e alteração da função pulmonar de punho hipertensivo ou restritivo. **Relato de Caso:** Relato de um caso de paciente com síndrome POEMS com Doença de Castleman co-existente. Paciente de 46 anos, sexo masculino, apresenta-se ao serviço médico com quadro de perda progressiva da força e parestesia nos membros inferiores, com dificuldade de deambulação há 6 meses. Associado ao quadro, paciente apresenta incontinência uri-

nária e disfunção erétil, além de perda ponderal de 13Kg no período. Ao exame clínico, notou-se adenomegalias em cadeias supraclaviculares, axilares e inguinais de até 2 cm. Investigação neurológica mostrou dissociação proteino-citológica sem pleocitose. Tomografia computadorizada de corpo inteiro evidenciou linfadenomegalia mediastinal, íliaca e inguinal bilateral, assim como lesões escleróticas no sacro. Biópsia de linfonodo inguinal demonstrou doença de Castleman variante hialino vascular. Eletroforese de proteínas sem pico monoclonal e biópsia de medula óssea sem infiltração neoplásica com plasmócitos típicos aumentados em número, isolados e agrupados. Iniciado terapia com corticosteróide sem melhora evidente. Diante a ausência de resposta a corticoterapia isolada, iniciada pulsoterapia com ciclofosfamida e metilprednisolona e solicitado novo perfil de pesquisa para gamopatia monoclonal, cuja nefelometria mostrou relação kappa/lambda invertida. Após primeiro ciclo, paciente evoluiu com melhora da força muscular e sensibilidade, além de ganho de peso. Ao final do quarto ciclo, houve aumento no tamanho dos linfonodos inguinais. Realizada nova biópsia linfonodal, compatível com hiperplasia linfóide reacional e hemangioma capilar. Introduzido azatioprina para quadro neurológico, paciente manteve aumento progressivo da adenomegalia, sendo optado por nova biópsia linfonodal, que evidenciou doença de Castleman. Iniciado terapia com siltuximab (antagonista de IL-6), paciente apresentou melhora da neuropatia, porém com aumento das linfonodomegalias após nove ciclos. Paciente iniciou nova proposta terapêutica com rituximabe, ciclofosfamida e dexametasona evoluindo com melhora clínico-laboratorial considerável. **Discussão:** O diagnóstico de POEMS é difícil e baseia-se em um conjunto de características clínicas e laboratoriais. Síndrome POEMS com coexistência de Doença de Castleman, que ocorre em mais de 30% dos pacientes, deve ter abordagem semelhante aos demais casos. Nesses pacientes, anticorpos anti-IL-6 e anti-receptor de IL-6, além de Rituximab devem ser considerados em adição a agentes alquilantes e corticosteróides. **Conclusão:** Neuropatia periférica, principalmente desmielinizante, deve suscitar investigação de síndrome POEMS, uma vez que o tratamento da discrasia plasmática produz resposta muito boa na maioria dos pacientes.

0591

Pacientes com mieloma múltiplo tratados com bortezomibe do HSPE: avaliação da resposta

Anúnciação AC, Bigonha JG, Satake M, Vargas AP, Justo AP, Figueiredo VL

Hospital do Servidor Público do Estado de São Paulo HSPE, São Paulo, SP

Introdução: mieloma múltiplo (MM) é uma desordem neoplásica, caracterizada pela proliferação clonal de células plasmáticas na medula óssea, presença de proteína monoclonal no sangue ou urina, associado a disfunção de órgãos. Com o surgimento das novas drogas, lenalidomida e bortezomibe, nos últimos anos, houve um aumento significativo na taxa de sobrevivência dos pacientes com MM. **Objetivo:** avaliar a resposta ao tratamento com regimes de quimioterapia contendo o bortezomibe em pacientes com MM. **Método:** foi realizado uma análise retrospectiva, incluindo pacientes tratados com esquemas contendo o bortezomibe, recém diagnosticados, em recidiva de doença ou com doença refratária, acompanhados no Serviço de Hematologia do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo no período de maio de 2009 a maio de 2012. **Resposta:** foram estudados 34 pacientes com MM, sendo 14 refratários, 11 em recidiva e 9 recém diagnosticados. A mediana de idade foi de 64 anos para os pacientes com doença em recidiva/refratária e 56 anos para os recém diagnosticados. A maioria dos pacientes foi classificado como estadiamento avançado de Durie & Salmon ou ISS. Considerando os MM em recidiva/refratário, a combinação do bortezomibe com ciclofosfamida e

dexametasona (VCD) foi o regime mais utilizado (48%), seguida pela combinação com dexametasona (28%). Quarenta e quatro por cento alcançaram critérios de resposta \geq resposta parcial e 48% apresentaram progressão de doença durante o tratamento. Não houve relação entre o grau de resposta e número de protocolos prévios ao tratamento com bortezomibe. Para os MM tratados como primeira linha, 88% receberam o protocolo VCD e 12% o VD. Oitenta e nove por cento alcançaram critérios de resposta \geq resposta parcial. **Conclusão:** Apesar de ser uma casuística pequena, nossos Resultados mostraram que o bortezomibe é uma droga eficaz no tratamento do MM, com taxas de respostas semelhantes às observadas em vários estudos.

0592

Avaliação clínico-epidemiológica dos pacientes com mieloma múltiplo na unidade de oncologia de Roraima

Martin CN¹, Fonseca AJ¹, Siqueira RS², Moraes IS², Murari RS², Silva HB², Carvalho RV²

¹ Unidade De Oncologia De Roraima – UNACON, Boa Vista, RR

² Universidade Federal De Roraima – UFRR, Boa Vista, RR

Introdução: O Mieloma Múltiplo (MM) caracteriza-se pela proliferação neoplásica de um único clone plasmocitário produtor de imunoglobulinas monoclonais com origem em tecidos linfóides secundários e manifestação essencialmente medular. A incidência do MM é de aproximadamente 4 casos por 100.000 habitantes/ano em estatísticas norte americanas. No Brasil a incidência de MM é desconhecida, uma vez que a doença não aparece nas estimativas anuais fornecidas pelo Instituto Nacional de Câncer. Roraima é um estado isolado geograficamente, com recursos financeiros escassos e uma população heterogênea (imigrantes venezuelanos, guianenses, nordestinos, além de importante quantitativo indígena) e a criação do primeiro serviço de oncologia no estado ocorreu somente em 2008 com a chegada de profissionais especializados. **Objetivo:** Descrever o perfil clínico-epidemiológico e a incidência dos casos de MM diagnosticados no único serviço de oncologia de Roraima (UNACON-RR) entre julho de 2008 e junho de 2011. **Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo, observacional, descritivo e transversal com coleta de informações de todos os prontuários de pacientes com diagnóstico de MM que preencheram os critérios de inclusão. Por envolver pesquisa em seres humanos o projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa da UFRR com parecer favorável. **Resultados:** Foram diagnosticados 9 casos de MM, correspondendo a 12% das neoplasias hematológicas. A incidência para o estado foi de 0.75 casos por 100.000 habitantes/ano. A média de idade foi de 59,7 anos, 5 (56%) eram mulheres e 5 (56%) não brancos. Oito casos apresentavam pico monoclonal da isoforma IgG (62,5%), enquanto apenas um caso apresentou pico de IgA. Em relação ao estadiamento no diagnóstico, 6 casos (67%) eram ISS I ou II e a quase totalidade deles, 8 casos (89%), possuíam estado clínico preservado, definido pelo *status* de performance 0-2. Ao analisarmos tratamento e desfecho, um caso (11%) foi submetido a conduta expectante, por ser smoldering e 8 (89%) receberam esquema de primeira linha com quimioterapia e/ou transplante de medula óssea e todos seguem acompanhamento na unidade para avaliar curva de sobrevivência. **Conclusões:** Apesar da importância crescente frente ao envelhecimento da população, ainda são escassas as informações sobre a epidemiologia e o comportamento do MM no Brasil. Nossos Resultados representam a totalidade de pacientes diagnosticados com essa neoplasia em Roraima no período analisado. Obtivemos ainda, que apesar do isolamento geográfico e das limitações de recursos materiais e humanos, a maioria dos pacientes recebeu diagnóstico em estágios precoces e obteve acesso a terapias consideradas de primeira linha por protocolos nacionais e estrangeiros.

0593

Hemoglobina como preditor isolado de sobrevida longa em portadores de mieloma múltiplo

Silva RO¹, Silva PF², Silva PB², Lima AK², Rocha SM², Faria JR¹, Faria RM¹

¹ Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

² Faculdade de Medicina da Unifenas, Belo Horizonte, MG

Introdução: Mieloma Múltiplo (MM) é uma desordem caracterizada por proliferação neoplásica de plasmócitos na medula óssea, presença de proteína monoclonal no sangue e urina e disfunção orgânica. Após a confirmação diagnóstica, a identificação de fatores que influenciam no prognóstico é importante para prever sobrevida e auxiliar na escolha terapêutica. **Objetivos:** Correlacionar as características clínicas e laboratoriais dos portadores de MM, ao diagnóstico, com a sobrevida. **Métodos:** Estudo retrospectivo descritivo tipo série de casos, através de levantamento de dados em prontuários dos pacientes portadores de MM atendidos no Serviço de Hematologia do HC-UFMG, no período de 1994 a 2011. Foram estudados 176 (89,8%) pacientes dentre os 196 portadores de Gamopatias Monoclonais atendidos no serviço. Na análise univariada a probabilidade de sobrevida e as curvas foram determinadas pela técnica do produto-limite de Kaplan-Meier, utilizando-se o teste de Log-Rank para efetuar as comparações. Na análise multivariada utilizou-se o modelo de regressão múltipla de Cox. **Resultados e Discussão:** A idade ao diagnóstico variou de 32 a 89 anos (M=63,5/DP=12,3), com predomínio do sexo masculino, 91 (51,7%) sobre o feminino, 85 (48,3%), em conformidade com a literatura. As manifestações clínicas ao diagnóstico foram: dor óssea em 143 (81,2%) pacientes, fraqueza em 102 (58%), perda de peso em 63 (35,8%) e fratura patológica em 32 (18,2%). Estudo radiológico convencional de esqueleto mostrou alterações em 139 (79%) indivíduos, com osteólise em 125 (89,9%). Estes achados confirmam a dor óssea como a principal manifestação clínica dos portadores de MM e reafirma sua relação com a destruição óssea. Além da doença óssea, os demais danos orgânicos observados foram: anemia em 142 (80,7%) pacientes, hipercalcemia em 109 (61,9%) e creatinina >2mg/dL em 38 (21,5%), caracterizando o acrônimo "CRAB" (calcium, renal insufficiency, anaemia and bone lesions). Pico monoclonal acima de 3g/dL foi encontrado em 104 (59%) pacientes. O tipo da imunoglobulina mais frequente foi IgG em 81 (46%) pacientes seguido por cadeia leve em 24 (13,6%) e IgA em 19 (10,8%). De acordo com os sistemas de estadiamentos clínico, 105 (59,7%) pacientes estavam no estágio III de Durie & Salmon, o que não se confirmou no ISS, com apenas 42 (23,9%) pacientes em estágio III, concentrando a maioria dos pacientes, 54 (30,7%) no estágio ISS II. Ambos os sistemas mostram doença clinicamente manifesta na maior parte dos pacientes por ocasião do diagnóstico. A sobrevida global dos pacientes foi de 76 meses (IC95%56-96), superior à descrita na literatura. Na análise univariada os fatores relacionados significativamente à sobrevida foram: creatinina \geq 2mg/dL ($p=0,0009$), hemoglobina \leq 10g/dL ($p=0,0000$), albumina \leq 3,5g/dL ($p=0,06$), beta-2 microglobulina \geq 4 mg/mL ($p=0,04$) e estágio Durie & Salmon ($p=0,03$). Pacientes que receberam Talidomida durante o tratamento, de forma isolada ou combinada com Melfalan e corticóide, apresentaram maior sobrevida ($p=0,07$) que os pacientes que não utilizaram. Na análise multivariada somente a hemoglobina \geq 10g/dL foi significativa, identificando este exame laboratorial simples e de baixo custo como o único preditor isolado de prognóstico na população estudada. **Conclusão:** Enfatiza-se a relevante correlação entre ausência de anemia, ao diagnóstico, e sobrevida longa em portadores de MM.

0594

Análise de eventos trombóticos em mieloma múltiplo durante tratamento de primeira linha com talidomida

Almeida MS, Cury P, Higashi F, Padilha MP, Quero AA, Peres AL, Crusoe EQ, Hungria VT

Santa Casa de Misericórdia de São Paulo – ISCSP, São Paulo, SP

A introdução de drogas novas, como o bortezomibe e as drogas imunomoduladoras (talidomida e lenalidomida), aumentou a sobrevida dos pacientes com mieloma múltiplo (MM). Porém, as drogas imunomoduladoras estão associadas à maior taxa de tromboembolismo venoso (TEV), como trombose venosa profunda (TVP) e embolia pulmonar (EP), principalmente quando associadas a outras drogas quimioterápicas. A incidência de TEV com o uso isolado de talidomida é em torno de 3-4%, semelhante aos esquemas melfalano e prednisona ou alta dose de dexametasona. Com a utilização da talidomida associada à dexametasona ou agentes antracíclicos, houve um aumento da incidência de TEV para 12 e 34%, respectivamente. Após a introdução de profilaxia com aspirina em dose baixa ou heparina de baixo peso molecular, houve uma redução para 3 a 7% de TEV. **Objetivos:** Avaliar os eventos trombóticos durante o uso de talidomida para tratamento de primeira linha em pacientes com MM sintomático e a eficácia da profilaxia com ácido acetilsalicílico (AAS) em dose baixa. **Métodos:** Realizamos um estudo descritivo através do levantamento das fichas ambulatoriais dos MM na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo entre janeiro de 2009 a julho de 2012. Como terapia de indução em pacientes elegíveis ou não ao transplante autólogo, foram realizados os seguintes esquemas de quimioterapia: talidomida + dexametasona (TD), ciclofosfamida + talidomida + dexametasona (CTD) e melfalano + prednisona + talidomida (MPT). Todos os pacientes receberam profilaxia com AAS na dose de 100mg/dia durante a quimioterapia. **Resultados:** 93 pacientes com MM sintomático receberam quimioterapia com idade mediana de 58 anos (38 a 81). Ao diagnóstico, 62 (67%) eram estágio DS IIIA, 18 (19%) IIIB, 6 (6,5%) IIA, 1 (1%) IA e 6 (6,5%) não avaliados. De acordo com a classificação ISS, 26 (28%) eram estágio I, 27 (29%) II e 33 (35%) III, com 7% não avaliados. O isotipo mais frequente foi IgG (55%), seguido de cadeia leve (22%) e IgA (21%). Em relação à quimioterapia, 33 (35%) pacientes realizaram o esquema TD, 51 (55%) CTD, 6 (6,5%) MPT e 3 (3,5%) iniciaram TD e houve mudança para CTD pela falta de resposta. Apesar do uso regular de AAS durante o tratamento, identificamos 6 (6,5%) eventos trombóticos distribuídos em cinco TVP e somente um caso de TVP/EP. Os pacientes foram submetidos à anticoagulação oral e prosseguiram o tratamento após RNI com valor terapêutico. Os eventos ocorreram nos dois primeiros ciclos em três casos e acima de três ciclos em três casos. No grupo de eventos trombóticos, 3 casos apresentavam redução da mobilidade, 1 obesidade e 1 sem fatores descritos. **Conclusão:** Na maioria dos centros Brasileiros, a droga mais utilizada no tratamento do MM é a talidomida. Daí a importância em sabermos a ocorrência dos eventos trombóticos na nossa população. No levantamento realizado, evidenciamos 7% de TEV com uso profilático de AAS em dose baixa nos pacientes com MM recém-diagnosticados sem história prévia de eventos trombóticos, assim como descrito na literatura. Em nosso país, a maioria dos pacientes apresenta estágio clínico avançado ao diagnóstico com comprometimento da mobilidade contribuindo para o risco aumentado de trombose. Portanto, o entendimento da tromboprofilaxia mais adequada de acordo com os fatores de risco presentes torna-se importante para otimização do tratamento dos pacientes com MM.

0595

Epidemiologia e distribuição das gamopatias monoclonais no serviço de hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

Silva RO¹, Silva PF², Silva PB², Lima AK², Rocha SM², Faria JR¹, Faria RM¹

¹ Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

² Faculdade de Medicina da Unifenas, Belo Horizonte, MG

Introdução: As Gamopatias Monoclonais (GM) são um grupo de desordens associadas à proliferação clonal de plasmócitos e caracterizadas pela produção de proteína monoclonal. O diagnóstico destas entidades requer a detecção e quantificação do componente monoclonal, a verificação de infiltração plasmocitária e a pesquisa do dano orgânico relacionado. A caracterização de cada variante é uma das principais dificuldades encontradas no manejo clínico destas entidades. A identificação das GM com ênfase nas principais características clínicas e laboratoriais é essencial para definição de critérios diagnósticos, avaliação de prognóstico, escolha de tratamento e monitoramento de resposta terapêutica. **Objetivos:** 1. Catalogar os portadores de GM atendidos no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG; 2. Descrever a idade mediana e o gênero dos pacientes e 3. Estabelecer a frequência de cada variante encontrada. **Métodos:** Estudo retrospectivo descritivo tipo série de casos, através de levantamento de dados em prontuários dos pacientes portadores de GM atendidos no HC-UFMG no período de 1994 a 2011. Análise descritiva das seguintes variáveis: tipo de gamopatia monoclonal, idade e sexo. **Resultados e Discussão:** A amostra obtida foi de 196 pacientes, sendo 176 (89,8%) portadores de Mieloma Múltiplo, 6 (3%) de Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado (MGUS), 6 (3%) de Plasmocitoma Isolado, 6 (3%) de Síndrome POEMS e 2 (1%) de Amiloidose Primária. A idade ao diagnóstico dos pacientes estudados variou de 32 a 99 anos (M=62/DP=12,7), sendo 52% do sexo masculino e 48% do sexo feminino. A literatura mostra que a população portadora de GM tem idade média de 49 anos, sendo a maioria do sexo masculino. No nosso estudo, os pacientes apresentaram média de idade mais elevada, uma vez que a maior parte da amostra é formada por portadores de Mieloma Múltiplo, tipo de gamopatia que acomete pessoas mais idosas. **Conclusão:** O diagnóstico das GM nem sempre é simples, porém é fundamental para uma adequada abordagem do paciente. O MM é a variante de maior prevalência e relevância clínica, provavelmente, por esses dois motivos, foi o representante quase que exclusivo de nossa amostra.

0596

Crítérios diagnósticos e estudo de sobrevida em pacientes portadores da Síndrome Poems

Silva RO¹, Silva PF², Silva PB², Lima AK², Rocha SM², Faria JR¹, Faria RM¹

¹ Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG

² Faculdade de Medicina da Unifenas, Belo Horizonte, MG

Introdução: A síndrome de POEMS é secundária a alteração clonal plasmocitária, correspondendo a menos de 2% das gamopatias monoclonais. A idade mediana é 50 anos. Seu diagnóstico é um desafio clínico, dado o pleomorfismo e a raridade. Os critérios diagnósticos foram revisados por Dispenzieri *et al* em 2007, para melhor caracterização. Polineuropatia e presença da proteína monoclonal continuam como critérios obrigatórios para o diagnóstico porém, a presença de lesão esclerótica ou doença de Castleman

associada a um critério menor (organomegalia, sobrecarga de volume, endocrinopatia, alterações de pele, papiledema, aumento do fator de crescimento endotelial-VEGF, trombocitemia/policitemia) devem ser documentadas para confirmação diagnóstica. Conhecer as características clínicas e laboratoriais ao diagnóstico, bem como a sobrevida destes pacientes auxilia não só o diagnóstico precoce, como também a melhor condução desses pacientes. **Objetivos:** 1. Analisar características clínicas e laboratoriais dos portadores de POEMS atendidos no HC-UFMG; 2. Descrever critérios diagnósticos presentes 3. Estudar a sobrevida. **Métodos:** Estudo retrospectivo descritivo tipo série de casos, através de levantamento de dados em prontuários dos pacientes portadores de POEMS, atendidos no HC-UFMG no período de 2006 a 2011. Foram estudados 6 (3%) pacientes dentre os 196 portadores de Gamopatias Monoclonais atendidos na instituição, porém, um foi excluído por não fechar critérios. A sobrevida global foi analisada pelo teste de Log-Rank. **Discussão:** A amostra final foi de 5 pacientes, sendo 3 do sexo masculino e 2 do feminino. A idade dos pacientes ao diagnóstico variou de 43 a 54 anos (M=48,8/DP=4,6). Reafirmando a raridade da doença e seu acometimento em torno da quinta década. Em relação às manifestações clínicas ao diagnóstico, todos os pacientes apresentavam polineuropatia ascendente motora e proteína monoclonal. Em todos os pacientes houve dificuldade diagnóstica, sendo 3 deles abordados inicialmente com CIDP (Polineuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica), evidenciando-se a necessidade de se reavaliar diagnósticos. Doença de Castleman foi diagnosticada em 2 pacientes enquanto a presença de lesões escleróticas em apenas 1. Em 3 pacientes foi evidenciada organomegalia. Endocrinopatia foi identificada em 3 pacientes. Lesão de pele estava presente em 3 pacientes, assim como a trombocitose; o derrame pleural foi visto em apenas 1. Analisando o tipo da imunoglobulina encontrada, 3 pacientes apresentavam IgA λ , 1 IgG λ e 1 cadeia leve λ . Este achado é o mesmo encontrado na literatura, onde a proteína M é usualmente IgA ou IgG e quase sempre do tipo lambda. Todos os pacientes apresentavam critérios diagnósticos segundo classificação antiga. Apenas 3 pacientes fechavam diagnóstico para a síndrome quando usado critérios atuais revisados. O tratamento foi baseado em quimioterapia com corticóides, agentes alquilantes e talidomida. Em relação ao tratamento inicial, 3 pacientes receberam CDT (ciclo/dexa/tal), 1 recebeu dexa+ tal e 1 apenas dexametasona. A sobrevida global foi de 25 meses. A literatura mostra que a doença apresenta um curso crônico com sobrevida média de 13,2 anos. **Conclusão:** A síndrome de POEMS é uma entidade rara, de difícil diagnóstico, porém com sobrevida longa. O grande desafio é o diagnóstico precoce para prevenir sequelas, especialmente neurológicas.

0597

Expressão dos genes da via JAK/STAT pela técnica de pcr array quantitativo em tempo real em linhagens celulares de mieloma múltiplo

Corbi FC^{1,2}, Oliveira MB^{1,2}, Carvalho F^{1,2}, Colleoni GW^{1,2}

¹ Departamento de Oncologia Clínica e Experimental, Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

² Laboratório de Biologia Molecular do Câncer, Edifício de Pesquisas II, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

Introdução: No mieloma múltiplo (MM), a ativação constitutiva de proteínas JAK tem sido demonstrada, promovendo a sobrevivência e proliferação das células tumorais. Alguns estudos envolvendo moléculas sintéticas mostraram a supressão da fosforilação da STAT3, que é o fator de transcrição ativado pela IL-6, induzindo apoptose em linhagens celulares de MM. Esses estudos sugerem que a inibição da via JAK/STAT pode ser um alvo potencial para o tratamento de pacientes com MM. **Objetivos:** Avaliar a expressão dos genes

JAK1 e *TYK2* em linhagens celulares de MM por PCR quantitativo em tempo real (qPCR) e, posteriormente, avaliar a expressão dos genes da via JAK/STAT pela técnica de PCR-*array* nas linhagens de MM selecionadas. **Métodos:** O RNA total das linhagens celulares de MM U266, SKO-007, RPMI-8226 e SK-MM-2 foi extraído pelo método de TRIzol, seguindo as instruções do fabricante. O RNA foi purificado (fenol-clorofórmio), quantificado pelo NanoDrop® e submetido à síntese de cDNA pela SuperScript III. A expressão dos genes *JAK1* e *TYK2* foi avaliada por qPCR (ABI PRISM® 7500) e utilizando o gene *β-actina* como o controle endógeno. As linhagens celulares escolhidas foram avaliadas em duplicata, utilizando *TaqMan® Array Human JAK/STAT Pathway, Fast 96-Well Plate* e os dados de expressão foram avaliados pelo *DataAssist v3.0*. Foram considerados hiperexpressos os genes que apresentaram expressão três vezes maior em uma linhagem celular em relação à outra. **Resultados:** As linhagens U266 e SKO-007 foram as escolhidas por apresentarem expressão relevante dos dois genes de interesse por qPCR. Após análise com *DataAssist*, confirmamos a expressão dos genes *JAK1* e *TYK2* nas duas linhagens celulares. Observamos a superexpressão de genes correlatos ao compararmos a expressão de U266 com SKO-007: *AKT2* (p=0.045) ou *AKT3* (p=0.010); *IL-6* (p=0.004) ou *IL-10* (p=0.004); e *GH1* (p=0.0319) ou seu receptor *GHR* (p=0.003). **Conclusão:** Os genes mais expressos nas linhagens U266 e SKO-007 apresentam similaridades de vias/função de modo que podemos vislumbrar possíveis alvos terapêuticos comuns, a serem confirmados em um maior número de linhagens celulares ou casos clínicos, antes e após o uso de inibidores da via JAK/STAT (FAPESP 2010/17668-6).

0598

Amiloidose primária sistêmica com acometimento principal pulmonar: relato de caso

Oliveira EM, Carvalho PD, Cardoso DK, Martinez GA

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, SP

A amiloidose primária é uma desordem sistêmica rara que predomina em indivíduos idosos, causada pela expansão clonal de plasmócitos que secretam cadeias leves de imunoglobulinas e estas se depositam nos tecidos causando sua disfunção. Os principais órgãos afetados são o coração, rins, fígado e sistema nervoso periférico, entretanto qualquer órgão pode ser acometido e em função disso seu diagnóstico torna-se difícil e demorado. Relatamos o caso de uma paciente de 57 anos que em janeiro de 2011 iniciou um quadro de astenia e mal estar geral, evoluindo com dispneia progressiva associada à tosse produtiva e hemoptoicos. Em setembro de 2011 procurou o Pronto Socorro do Hospital das Clínicas da FMUSP, referindo piora da dispneia associado a dor em membro inferior esquerdo, sendo diagnosticado trombose venosa profunda. Tomografia de tórax mostrou tromboembolismo pulmonar e infiltrado em vidro fosco com espessamento de septos em lobos inferiores cuja biópsia transbrônquica revelou deposição de material amorfo hialino em parede brônquica com pesquisa de substância amilóide pelo Vermelho Congo positiva. Na investigação para amiloidose descartado qualquer indicio de doença inflamatória crônica, a paciente não apresentava disfunção renal ou hipercalcemia e apresentava anemia discreta que em investigação com endoscopia digestiva revelou ulcera gástrica cuja biópsia revelou-se também positiva para a coloração Vermelho Congo. A paciente apresentava em eletroforese de proteínas séricas pico monoclonal gama e a imunofixação sérica e urinária mostrou paraproteína lambda livre. Miograma realizado evidenciou 10% de plasmócitos anômalos e a biópsia de medula óssea mostrou 5% de plasmócitos e foi negativa para proteína amilóide assim como a biópsia de tecido subcutâneo. Ecocardiograma mostrou dilatação de ventrículo direito sem espessamento de septo ou parede ventricular. A cintilografia com pirofosfato mostrou hiper-

concentração do radiofármaco em pulmões, estômago, baço e vesícula biliar. Diante do quadro, feita hipótese de amiloidose primária e iniciado tratamento com Melfalano e Prednisona. Como a paciente já apresentava desde o diagnóstico, alterações pulmonares com necessidade de oxigênio suplementar, evoluiu com múltiplas complicações infecciosas e faleceu em vigência de choque séptico de foco pulmonar e provável síndrome coronariana aguda em maio de 2012. A amiloidose primária, se não diagnosticada e tratada adequadamente, apresenta mortalidade que chega a 80% em 2 anos. Infelizmente a paciente relatada foi diagnosticada em uma fase de doença pulmonar já avançada o que corroborou com sua evolução clínica desfavorável.

0599

Perfil do mieloma múltiplo na cidade de Campina Grande, PB

Grisi RM, Silva AC, Guerra GI, Farias JT, Miranda PR, Pinheiro W

Hospital Da Fundação Assistencial Da Paraiba, Campina Grande, PB

Objetivo: O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia maligna determinada pela proliferação monoclonal de plasmócitos. Os dados epidemiológicos encontrados na literatura vigente demonstram que: a doença é mais frequente na raça negra e no sexo masculino, a proteína M predominante é a IgG, há também predomínio de cadeia leve do tipo kappa e o aumento da idade contribui com a sua maior incidência. O objetivo desse trabalho é traçar um perfil epidemiológico do mieloma múltiplo (MM) na cidade de Campina Grande – PB. **Métodos:** Estudo retrospectivo, no qual foi realizada a coleta de dados contidos em prontuários médicos de pacientes portadores de MM atendidos ou encaminhados para o Hospital da Fundação Assistencial da Paraíba (hospital referência no tratamento de neoplasias da cidade), no período de 2010 a 2012. A amostra foi composta por 37 pacientes, sendo excluídos os que não tiveram informações suficientes. O estadiamento foi realizado utilizando-se o Índice de Estadiamento Internacional (ISS) e o exame laboratorial que identificou o tipo/cadeia foi a Imunofixação sérica. **Resultados:** Dos 37 pacientes diagnosticados com mieloma múltiplo, 48,6% tinham faixa etária entre 40 e 65 anos de idade; 56,8% eram do sexo feminino; 68% eram da cor branca; 59% dos pacientes encontrava-se no estágio IIA da doença e o tipo/cadeia IgGKappa apresentou frequência de 37,8%. **Conclusão:** O estudo epidemiológico do mieloma múltiplo na cidade de Campina Grande – PB, revelou que a predominância do tipo/cadeia corroboraram com os Resultados da pesquisa, uma discreta prevalência da doença no sexo feminino e uma prevalência relevante da doença nos indivíduos de raça branca.

0600

Mieloma múltiplo e trombocitemia essencial JAK2 positiva, com diagnósticos concomitantes: relato de um caso

Gabriel A, Lusi L, Pataro L, Orlando E, Nucci F, Mercante D, Damasceno J, Oviedo C, Pires A, Praxedes M

Hospital Universitário Antonio Pedro, Universidade Federal Fluminense – UFF, Niterói, RJ

A concomitância de duas neoplasias hematológicas é rara e a associação de mieloma múltiplo (MM) com trombocitemia essencial (TE) representa uma condição ainda mais incomum. Apresentamos o caso de um paciente masculino, 57 anos, que em abril/2011 recebeu o diagnóstico de mieloma múltiplo IgG/Kappa e que evoluiu com trombocitose. Os sintomas tiveram início em dezembro/2010, com dor lombar e diminuição de força nos membros inferiores. Foi encaminhado ao Serviço de Hematologia do Hospital Universitário

Antônio Pedro – UFF e após a realização dos exames, que confirmaram o diagnóstico de Mieloma Múltiplo, foi estadiado como IIIA. O hemograma inicial mostrava anemia (Hb 7,7g/dL), leucocitose (WBC 13.600/mm³) e trombocitose (plaquetas 506.000/mm³). A função renal era normal e a dosagem de IgG era de 2280mg/dL e a β -2 microglobulina de 1,47. O estudo histopatológico de medula óssea revelou ocupação por células mielomatosas em mais de 75% da área medular, associada à mielofibrose e hemossiderose. A imunofixação era positiva para anti-IgG Kappa. Foi iniciado o tratamento com pamidronato, dexametasona e talidomida em abril/2011, com boa evolução clínica, melhora das dores ósseas, redução da proteína mieloma, normalização da hemoglobina, porém houve aumento progressivo da contagem de plaquetas. Foi iniciado antiagregante plaquetário e solicitada pesquisa da mutação V617F do gene *JAK2*, que se mostrou positiva nos granulócitos. A revisão de literatura confirma a excepcionalidade desse caso, pois os relatos encontrados referem essas doenças como sendo subsequentes uma à outra, normalmente, casos de TE que após alguns anos de tratamento com quimioterapia desenvolvem MM. O risco de transformação leucêmica na TE é reconhecido como efeito das quimioterapias empregadas. Porém, nesse caso, não houve exposição prévia à quimioterapia, uma vez que as doenças coexistiam no momento do diagnóstico. A coexistência das duas neoplasias sugere que ambas tenham se originado a partir de diferentes clones malignos, um clone mielóide e outro linfóide. Porém, em um estudo realizado no único paciente como o nosso (Kurada 2008), ficou demonstrado por hibridização *in situ* nas células mielomatosas CD138-positivas, que havia uma translocação entre o gene de cadeia pesada de imunoglobulina e a ciclina D1, mas essa alteração não estava presente nas células hematopoéticas não-mieloma. Esse dado sugere que as doenças são decorrentes da aquisição de diferentes aberrações moleculares independentes. Rashkind 1985 e Tsirikis 2011 atribuem a associação dessas doenças à existência de uma célula tronco pluripotencial neoplásica, com dupla capacidade de diferenciação, mielóide e linfóide. A interleucina-6 (IL-6) pode ser a ligação entre MM e TE. A IL-6 é um potente fator de crescimento celular humano e nas células mieloma, a superprodução desta citocina é um fator importante na patogênese e na progressão da doença (Gado 2000). A IL-6 também é conhecida por promover megacariocitopoeia *in vitro* e aumentar a contagem de plaquetas *in vivo*. A existência de uma interação patogênica entre a IL-6 do MM com os mecanismos envolvidos na mieloproliferação da TE, ainda precisa ser estabelecida e a escolha de um tratamento ideal que possa contemplar as duas entidades é um desafio.

0601

ANKHD1 regulates cell cycle progression by regulating expression of p21 independent of p53 status of multiple myeloma cells

Dhyani A, Duarte AS, Favaro P, Saad ST

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

ANKHD1 is a multiple ankyrin repeats containing protein, highly expressed in cancers, such as acute leukemia. Previous studies showed that ANKHD1 is highly expressed and plays a role in proliferation and cell cycle progression of multiple myeloma (MM) cells. The present study aimed to elucidate the underlying mechanism behind the antiproliferative role of ANKHD1 in multiple myeloma. In the present study ANKHD1 expression was silenced using short hairpin RNA (shRNA)-lentiviral delivery vector in MM cell lines. Having observed the accumulation of cells in S phase in ANKHD1 silenced cells in our earlier study, we hypothesized that ANKHD1 downregulation might change the expression of cell cycle genes. Hence using qRT-PCR and Western blot we examined the effect of ANKHD1 knockdown on the expression of cell cycle and proliferation related

genes, including Cyclin dependent kinase inhibitors- p21 (*CDKN1A*) and p27 (*CDKN1B*), Cyclins- cyclin A2 (*CCNA2*), cyclin B1 (*CCNB1*) and cyclin E1 (*CCNE1*), Cyclin dependent kinases - *CDK2* and *CDK4*. Following the inhibition of ANKHD1 in U266, mRNA levels of *CDKN1B*, *CCNB1* and *CCNE1* were reduced by 42.2%, 23.1% and 30% compared to control, respectively. Similarly, downregulation of ANKHD1 in MM1S cells reduced mRNA levels for *CDKN1B*, *CCNB1* and *CCNE1* by 42.3%, 23.2% and 18%, respectively. On the other hand, *CDKN1A* was highly upregulated in both U266 (>100%) and MM1S (52%) cell lines on downregulation of ANKHD1. No significant changes in *CCNA2*, *CDK2* and *CDK4* were observed on ANKHD1 silencing of both U266 and MM1S cells at mRNA levels. At protein levels, as determined by western blot, the two cell lines differed in levels of cyclin A protein with increase in U266 but a decrease in MM1S cells. However in contrast to qRT-PCR results, where there was no significant difference in *CDK2* and *CDK4*, there was a decrease in *cdk2* and *cdk4* at protein levels in both cell lines with almost complete inhibition in U266 cells. On the other hand in correlation with mRNA levels, the level of p27 protein was reduced and p21 expression increased in both cells with ANKHD1 silencing. We also analysed expression of the tumour suppressor gene, *TP53*, which is a potent transcriptional regulator of p21 and found that *TP53* was upregulated (50%) in MM1S but downregulated (52%) in U266 cells on downregulation of ANKHD1. The reason for this difference may be due to the fact that p53 is wild type in MM1S but mutated in U266 cell line. Hence ANKHD1 inhibition upregulates p21 in cell lines with wild type and mutant p53 and inhibits cell cycle progression. Based on this finding, we can suggest that inhibition of ANKHD1 in myeloma cell growth is independent of p53 status of cells and the arrest of S phase might be mainly due to upregulation of p21, induced by ANKHD1 inhibition. However, how exactly ANKHD1 inhibition leads to upregulation of p21 and causes accumulation of cells in the S phase is not yet clear and requires investigation. Further studies investigating functional role of ANKHD1 may lead to a better understanding of the molecular mechanism of multiple myeloma and help in development of therapeutics.

0602

Tumor antigens and T cell subpopulations: is there correlation between these two possible targets for immunotherapy in multiple myeloma?

Braga WM¹, Silva BR¹, Alves VL¹, Carvalho F¹, Atanackovic D², Coleoni GW¹

¹ Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

² University Medical Center Hamburg, Eppendorf, Germany

Introduction: Cancer/Testis Antigens (CTAs) are a promising class of tumor antigens that have a limited expression in somatic tissues (testis, fetal ovary, and placental cells). CTAs are attractive targets for immunotherapy in cancer because the gonads are immune privileged organs and anti-CTA immune response can be tumor-specific. Recently, the importance of microenvironment for development and maintenance of many types of malignancies has been demonstrated. Multiple myeloma (MM) offers a good model to study tumor/microenvironment interactions because it involves a series of genetic alterations and changes in bone marrow microenvironment, favoring the tumor growth and failure of local immune control. A detailed analysis of the balance between Tregs and Th17 lymphocytes seems necessary to design more effective and less toxic types of immunotherapy in myeloma which is still an incurable malignancy. **Aims:** The present study aims to characterize and correlate expression of genes related to tumor cells (CTAs) and genes related to antitumoral control (Treg and Th17 lymphocytes) in patients with MM. **Methods:** Forty-six bone marrow samples from newly diagnosed MM patients were analyzed. *MAGE-C1/CT-7*, *MAGEA3/6*, *NY-ESO-1*, *LAGE-1* and *GAGE* expression were analyzed by conventional RT-PCR.

CTLA-4 and *ROR γ t* were used to evaluate Treg and Th17 subpopulations, respectively, by quantitative PCR (qPCR). The analysis of the possible correlation between the expression of *CTLA-4* and *ROR γ t* and *MAGE-C1/CT7*, *MAGEA3/6*, *NY-ESO*, *LAGE-1* and *GAGE* were made using median comparison expression of the first two genes with the positive or negative expression of the CTAs, using the Mann-Whitney test. **Results:** The CTA more frequently expressed in MM was *MAGEC1/CT7* (66%). Expression *MAGEA3/6*, *NY-ESO-1*, *LAGE-1* and *GAGE* were, respectively: 40%, 23%, 32% and 30%. *ROR γ t* presented hipoexpression in 41% of the cases and *CTLA-4* presented overexpression in 70% of MM cases. The correlation analyses between all the CTAs and the *CTLA-4* or *ROR γ t* did not show any significant result ($p > 0.05$). **Conclusion:** We found overexpression of a Treg subpopulation related gene (*CTLA-4*) and hipoexpression of Th17 (*ROR γ t*), indicating possible imbalance of T lymphocytes in the tumoral microenvironment. However, it was not possible to establish a correlation between the expression of the most frequently expressed CTAs in MM with Treg and Th17 cell-related genes expression. It suggests that the expression of these genes does not seem to occur in a coordinate manner and its importance as therapeutic target in MM must occur by an independent way (Supported by Fapesp 2010/17668-6).

0603

Expression of genes related to regulatory T lymphocyte subset did not have impact on multiple myeloma overall survival

Braga WM¹, Silva BR¹, Bortoluzo AB², Atanackovic D³, Colleoni GW¹

¹ Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

² Insper Institute of Education and Research

³ University Medical Center Hamburg, Eppendorf, Germany

Introduction: Multiple myeloma (MM) development involves a series of genetic alterations and changes in the bone marrow (BM) microenvironment, favoring the growth of the tumor and failure of local immune control. T regulatory (Treg) cells play an important role in the maintenance of self-tolerance and modulation of overall immune responses against infections and tumor cells. T-helper-17 (Th17) cells, on the other hand, have a critical function in eradicating extracellular pathogens and tumor cells. The balance between Treg and Th17 cells may be essential for maintaining homeostasis of anti-tumor immunity. We have already shown that *CTLA-4* and *FOXP3* were overexpressed in over than 60% of MM cases (data not published). Therefore, the aim of the present study was to know if, besides the role as biomarkers and possible therapeutic targets, the Treg subpopulation genes have also prognostic impact in this still incurable disease. **Methods:** We studied 46 newly diagnosed and treatment naïve MM patients. According to the International Staging System (ISS) there were 06 cases classified as ISS 1, 13 ISS 2, 23 ISS 3 and 04 not classified. Patients were treated with Dex/Tal (5 were submitted HDT and autologous stem cell transplantation) or MPT, depending on the age or performance status. Expression of *FOXP3*, *CTLA-4*, *TGFB1* and *CD25* were determined by quantitative real-time PCR (qPCR) in BM aspirates using *TaqMan* Gene Expression Inventoried Assays (*Applied Biosystems*). *GAPDH*, *BGUS* and *β actin* gene expression mean was chosen as the endogenous control based on previous publications. Genes were considered differentially expressed in tumor samples when their expression levels showed at least a 2-fold increment or decrease in comparison to normal samples. Overall survival (OS) time was calculated from the date of diagnosis of MM until death or last follow-up. Actuarial probabilities of OS were estimated according to the Kaplan-Meier method and the curves were compared using the log-rank test. The Cox's Regression Model was also employed to evaluate which variables could be considered independent prognostic factors on OS in this group of patients. **Results:** Median OS of MM patients was 16.8

(range 4.45-29.1) months. Univariate analysis showed that ISS (1 vs 2 vs 3, log-rank $p=0.0106$), *FOXP3* (overexpressed vs normoexpressed vs hipoexpressed, $p = 0.0726$), *CTLA-4* ($p=0.7859$), *TGFB1* ($p=0.1013$), *CD25* ($p=0.087$). Cox Regression Model showed that only ISS ($p = 0.0108$, RR 5.04, CI 1.1526-22.1064) was independent prognostic factor for MM patients survival. **Conclusions:** Despite a significant increase in the expression of genes related to Treg cells, our data showed no impact of those genes on overall survival of patients with MM (Supported by Fapesp 2010/17668-6, Brazil).

0604

Características clínico-patológicas e prognósticas do mieloma múltiplo CD 56 negativo

Pilon B, Silveira I, Lusus L, Gabriel A, Pires A, Praxedes M

Hospital Universitário Antonio Pedro, Universidade Federal Fluminense – UFF, Niterói, RJ

Introdução: O diagnóstico do Mieloma múltiplo (MM) costuma ser facilmente estabelecido na cito ou na histologia da medula óssea e o estudo do fenótipo das células plasmáticas não é habitualmente necessário. Contudo, a expressão aberrante de antígenos como o CD56 pode ter valor prognóstico nesta doença. O CD56, molécula de adesão expressa em células neurais e um marcador de células linfóides T/NK, é um antígeno cuja superexpressão ocorre em grande parte das células do MM, estando a ausência deste marcador associada a um subgrupo da doença, com evolução clínica desfavorável. O CD 56 está associado com a migração celular para a medula óssea e tem um importante papel na ancoragem de plasmócitos no estroma da medula óssea, promovendo interações entre as células neoplásicas com osteoblastos e osteoclastos, aumentando a osteólise e diminuindo a produção de osso. O CD56 promove a ligação entre células do MM e os osteoblastos, com a diminuição da produção de matriz óssea e a formação de lesões osteolíticas. Além disso, os altos níveis de CD56 presentes numa forma solúvel, secretada no plasma de pacientes com MM poderiam resultar na redução sistêmica da função osteoblástica, que contribuiria para a osteoporose generalizada. A ausência da expressão de CD56 em células do MM facilita a progressão para uma fase leucêmica da doença, a forma rara, chamada Leucemia de células plasmáticas. O MM CD56 negativo está associado à doença agressiva, com comprometimento extramedular, insuficiência renal, doença no Sistema nervoso central, proteinúria elevada e altos níveis de β 2-microglobulina e prognóstico ruim com redução da sobrevida do paciente. **Resultados:** Foram identificados 112 pacientes diagnosticados com mieloma múltiplo no período de 1999 a 2009, dos quais apenas 20 apresentavam os requisitos para estudo dos casos: reserva de parafina para a realização da imunohistoquímica e dados clínicos e laboratoriais nos prontuário, disponíveis para avaliação. Destes 20 pacientes, 6 apresentaram a expressão do anticorpo CD56 e os 14 restantes eram negativos. Os pacientes CD56 positivos tinham lesões ósseas múltiplas em 83,3% dos casos e creatinina elevada em 33,3% dos casos. Nos pacientes CD 56 negativos tinham 78% de lesões ósseas graves e a creatinina estava elevada em 35,7% dos casos. Não houve casos de leucemia de células plasmáticas nos dois grupos. **Conclusões:** Embora o número de casos estudados seja muito pequeno e não seja possível tirar conclusões a partir deste estudo, é importante destacar as dificuldades observadas pelos alunos da Faculdade de Medicina da UFF, principais autores deste trabalho, na obtenção das informações corretas a partir dos prontuários médicos convencionais de um hospital geral, habitualmente incompletos e muitas vezes sequer encontrados. Neste estudo, os pacientes CD56+ mostraram uma porcentagem discretamente superior de lesões ósseas ao diagnóstico, em relação aos pacientes CD56-. Os pacientes CD56- apresentaram níveis mais elevados de creatinina em comparação com os pacientes CD56+, indicando

que a ausência da expressão deste marcador poderia estar associada à piora da função renal. Há necessidade de prosseguimento do estudo para a obtenção de uma casuística mais significativa, que confirme as tendências observadas.

0605

Serum free light chain automated immunoassays; fundamental armamentarium for the identification of multiple myeloma and other B cell malignancies

Harding S¹, Carr-Smith H¹, Delgado F², Carvalho NB³, Berard AM⁴

¹ *The Binding Site Group, Birmingham, UK*

² *The Binding Site Group, Argentina*

³ *The Binding Site Group, Spain*

⁴ *Laboratoire de Biochimie du Pr. Hubert deVerneuil, Hopital Haut-Leveque, Pessac, France*

Multiple myeloma comprises approximately 10% of all haematological neoplasms and is characterised by the clonal expansion of plasma cells expressing monoclonal immunoglobulins. Tumours producing only monoclonal free light chain (FLC) account for approximately 20% of all multiple myeloma diagnoses. Protein and immunofixation electrophoresis of serum and urine are established as diagnostic aids for identifying monoclonal gammopathies. However, many patient sera sent to laboratories are not accompanied by urine samples and recent reports suggest the use of Freelite™, serum FLC analysis in combination with serum protein electrophoresis (SPE) and immunofixation electrophoresis (IFE) could eliminate the need for urinalysis. The aim of the study was to assess the utility of sFLC measurement in addition to SPE in the identification of patients with B-cell malignancies. Serum samples from 952 patients (mean age: 60 years) referred to the Laboratory of Biochemistry (Hopital Haut-Leveque, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux) for investigation of potential B-cell malignancies were studied. SPE and IFE (IgG, IgA, IgM, kappa and lambda) were performed using an agarose electrophoresis system (Hydrasys, SEBIA, Norcross, USA) in accordance with the manufacturer's instructions. Serum FLC measurements were made retrospectively on all samples (Modular P; Roche, Basel, Switzerland) using sFLC and the ratio of free kappa / free lambda calculated. IFE was performed when there was an abnormal SPE result or the free kappa / free lambda ratio fell outside the normal range (0.26-1.65). 111/952 (12%) patient sera were identified as having an abnormality by SPE. 83/111 (75%) were confirmed and characterised by IFE of which 75/83 (90%) had abnormal free kappa / free lambda ratios. In the remaining 841 patients negative by SPE, 57/841 (7%) had an abnormal free kappa / free lambda ratio. Clinically significant diagnoses were made in 23/57 patients (40%), of which 10/23 were positive by IFE (1 x AL amyloidosis, 4x light chain MM, 4 x MM, and 1 x MGUS). Additionally IFE negative, sFLC positive patients included 3 x light chain MM, 1 x MM, 1 x MGUS, 6 x leukaemia and 2 x lymphoma. The identification of monoclonal bands using SPE requires skilled interpretation, never more so than when the monoclonal immunoglobulin produced is FLC. Historically, urinalysis has been used to aid in the identification of these patients. However, collection can be sporadic and when the underlying disease is subtle, urine concentration can make interpretation of the gels difficult. Serum FLC measurement utilising the Freelite assay has changed the diagnostic paradigm; this study supports that paradigm shift. 7 light chain MM not identified using SPE (3 of which were also negative by IFE) and 5 oligosecretory MM patients were identified by Freelite alone. Oligosecretory and light chain MM are difficult to assess using standard tests and in conclusion our data support the routine inclusion of sFLC analysis in the identification of B-cell malignancies.

0606

Monitoring myeloma kidney patients with freelite provides useful information about patient response to treatment

Bevins A¹, Carvalho NB¹, Hutchison CA²

¹ *The Binding Site Group Ltd, Birmingham UK*

² *Renal Unit, University Hospital Birmingham, UK*

Background: Myeloma kidney is a known complication of multiple myeloma. Patients who do not achieve dialysis independence have poor survival outcomes. Early reductions in FLC concentrations, achieved via a combination of chemotherapy and direct FLC removal, have previously been associated with improved outcomes. The development of a sensitive assay for the measurement of serum free light chains (FLC, Freelite™) has allowed for accurate diagnosis and monitoring of these patients. **Methods:** A web-based data collection site was developed to assess the international treatment and monitoring of patients with acute kidney injury secondary to multiple myeloma. **Results:** Data was collected from 54 patients, from 18 centres in 10 countries. All patients were Caucasian with a median age 65 years (range 43-81) at presentation. At acute renal failure, median GFR was 8ml/min/1.73m² (1-27), creatinine 633.5µmol (168-2263); calcium 2.3mmol (0.91-3.83); albumin 34g/L (14-46) and β2M 9.45mg/L (0-55.7). 79% of patients had a renal biopsy, in which myeloma kidney was the primary diagnosis (88.1%). 43% of patients presented with a monoclonal κ FLC (median 5070mg/L, range 2250-20200) and 57% with a monoclonal λ FLC (4200mg/L, range 300-13300). All patients received high-cut-off haemodialysis (HCO-HD) treatment: 68.75% were treated with the Theralite™, 31.25% with HCO1100. 78% received bortezomib and 34% received thalidomide as part of their induction therapy. In total 626 HCO-HD sessions were recorded, with a median of 13 sessions per patient. Serum FLC were measured pre-dialysis to monitor response to treatment. 73% of patients demonstrated a decrease in FLC concentration following HCO-HD treatment, with 87% of these patients demonstrating a decrease by day 12 (median reduction 73%, 15-100%). This was increased to 93% (40-100%) by the last HCO-HD treatment. Patients treated with Theralite had a higher FLC decrease by day 12 (median 90%) compared to HCO1100 (56%, p=0.030). There was no difference in the percentage FLC reduction at day 12 between patients receiving either bortezomib (median decrease 79%) or thalidomide (median decrease 67%, p=0.140). Dialysis independence occurred in 56% of patients, median time 32 days (10-249). Patients who achieved dialysis independence had significantly greater serum FLC reductions by day 12 (p=0.032). **Conclusion:** Reducing serum FLC concentrations is associated with an improved prognosis for myeloma kidney patients. Monitoring of involved FLC concentration by Freelite allows for the accurate assessment of the patients response to treatment.

0607

Comparison of immunoassays for the identification of monoclonal free light chains

Bevins A, Carvalho NB, Matters DJ, Young PJ, Carr-Smith HD, Harding SJ

The Binding Site Group Ltd, Birmingham UK

Background: International guidelines recommend the use of serum free light chain measurements (Freelite™, The Binding Site Group, UK) as a replacement for 24hr urine, alongside serum protein electrophoresis (SPEP) for the diagnosis of monoclonal gammopathies. Recently, a new assay has become commercially available which utilises monoclonal antibodies rather than the poly-

clonal antibodies as used in the gold standard assay. This study was designed to compare the performance of the two assays and comment on the utility of both in clinically relevant settings. **Methods:** Comparison of the two assays were performed using randomly selected sera from 208 patients with monoclonal gammopathy (87 κ FLC, and 121 λ FLC), 27 patients with myeloma kidney (10 κ FLC, and 17 λ FLC), and 20 healthy controls. Freelite and N-Latex FLC (Siemens, Germany) were measured on a BN™II nephelometer. Antigen excess was evaluated by analysing samples at non-standard dilutions. Concordance between the two assays was assessed by correlation analysis. $R^2 > 0.95$ were considered significant as recommended by The Clinical and Laboratory Standards Institutes guide to Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples (EP09-A2-IR) **Results:** There was poor correlation between FLC results returned using the Freelite and N Latex assays: Whole population (Kappa n: 122; $R^2=0.5723$ / Lambda n: 179; $R^2=0.7063$); Whole minus Controls (Kappa n: 62; $R^2=0.5264$ / Lambda n: 117; $R^2=0.6821$); Controls (Kappa n: 20; $R^2=0.4340$ / Lambda n: 20; $R^2=0.7860$); Multiple Myeloma (Kappa n: 27; $R^2=0.6157$ / Lambda n: 43; $R^2=0.7165$); Amyloid (Kappa n: 36; $R^2=0.5777$ / Lambda n: 72; $R^2=0.5616$); Myeloma Kidney (Kappa n: 10; $R^2=0.8568$ / Lambda n: 17; $R^2=0.3666$). Freelite identified 60/85 myeloma patients, and 121/123 in patients with Amyloid and other plasma cell dyscrasias. Comparatively, the N-Latex assay identified 58/85 myeloma patients, and only 106/123 patients with Amyloid. Of the patients with secondary AKI, 5/27 were misclassified as having FLC concentrations below the nephrotoxic range (500mg/L). Additionally, 1/17 IFE positive IgA lambda patient was misclassified as a kappa monoclonal gammopathy using the N-latex assay (Freelite results = 8mg/L kappa / 1810 mg/L lambda = 0.004; N-latex results 4.2mg/L kappa / 0.5mg/L lambda = 8.02). Measurement of the sample at further dilutions did not identify the sample in excess. In all samples tested the incidence of antigen excess was greater in the N Latex assay (2.5% of kappa and 5% of lambda) than the Freelite assay (1% kappa and 0% lambda). **Conclusions:** In patients with monoclonal gammopathies there was poor agreement between the N-Latex and Freelite assays, possible due to the limited epitope range typical of a monoclonal antibody based assay. As the R^2 values fall below the 0.95 threshold in all the comparison studies made with clinical samples, the Freelite and N Latex assays cannot be considered to be equivalent. This poor concordance means that the N-Latex assay cannot be used as indicated in international guidelines. Furthermore, the N-Latex assay does not accurately identify patients with AKI secondary to monoclonal gammopathy.

0608

Angiogenesis in multiple myeloma: comparison between two vascular markers

Urigo KP¹, Morais JC¹, Marcos HP¹, Garnica M¹, Vassallo J², Souza C², Maiolino A¹, Milito C¹

¹ Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

² Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Angiogenesis correlates with multiple myeloma (MM) development and progression. In this study, the microvascular density (MVD) was determined by immunohistochemistry using anti-CD34 and anti-CD105 antibodies and compared to known prognostic factors in MM. We hypothesized that angiogenesis could give more information about prognosis in MM when assessed by a more specific intra-tumoral vascular antigen (CD105). Bone marrow MVD was examined in 48 MM patients by immunostaining the endothelial cells with monoclonal antibodies to CD34 and CD105. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression was also determined by immunostaining technique. Eleven BM specimens were used

as control. The MVD was significantly higher in MM than in controls after immunostaining with either CD34 (median 25.5 vs. 10.5; $p=0.001$) or CD105 (median 25.6 vs. 14.3; $p<0.01$). A significant association between MVD and Durie-Salmon stage (DS), bone marrow plasma cell percentage, VEGF expression and low hemoglobin levels was found when CD34 antigen was targeted. No correlations with prognostic factors were observed for CD105. In MM, angiogenesis evaluated by anti-CD34 was correlated to advanced disease and anti-CD105 did not add prognostic information when compared with the pan-endothelial marker.

0609

Plasmocitoma gástrico: relato de caso

Silva CE, Kussumi VM, Ono S, Jasbik J, Simmer F, Lima CB, Kelly L, Solza C, Medeiros J, Leite C

Hospital Universitário Pedro Ernesto - HUPE, Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, Rio de Janeiro, RJ

Paciente OFM, feminina, 87 anos, viúva, do Lar, natural do Rio de Janeiro, sem comorbidades conhecidas, com quadro a 01 ano de emagrecimento de cerca 7 Kg (12% do peso total), hiporexia e astenia. Nega febre, sudorese noturna, sangramentos, alteração do hábito intestinal e linfonodomegalias. Iniciou investigação com TC de abdome e pelve em Janeiro/2012, que evidenciou lesão hepática sugestiva de hemangioma e espessamento de parede gástrica, sem linfonodomegalias. Restante sem alterações. Realizou então EDA em Fevereiro/2012 que visualizou abaulamento de 4cm na grande curvatura do corpo distal. Histopatológico da lesão revelou infiltração da lâmina própria por plasmócitos bem diferenciados com imunoposição clonal (CD 138 +, CD 56 +, CD 68 +, Kappa +, CD 5 -, CD 20 -, CD 23- e Ciclina D1 -), com diagnóstico de plasmocitoma gástrico. Encaminhada ao serviço de Hematologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto em Maio 2012, para realização de diagnóstico diferencial entre Plasmocitoma Solitário e Mieloma Múltiplo e definição de tratamento. Exames realizados foram: Hemograma normal, Clearance de creatinina 60%, Cálcio corrigido 9,2 e Eletroforese de proteína sérica e urinária sem pico monoclonal, Imunofixação de proteína sérica e urinárias sem bandas monoclonais, inventário ósseo sem lesões líticas, B2 microglobulina 2,7 e mielograma (14/06) com 5% de plasmócitos típicos, sem alterações no restante dos setores celulares. Com o diagnóstico de Plasmocitoma solitário gástrico, foi realizado revisão da literatura e proposto tratamento radioterápico, 25 sessões, iniciado em Junho/2012, ainda em curso. Irá realizar EDA para controle da lesão após término do tratamento.

0610

Prevalência de gamopatia monoclonal em doadores de sangue acima de 40 anos da santa casa de são paulo: análise preliminar

Arruda M, Lima LC, Simão AZ, Crusoe EQ, Cury P, Quero AA, Peres AL, Almeida MS, Higashi F, Camargo MP, Chiattonne CS, Hungria VT

Santa Casa de Misericórdia de São Paulo – ISCSP, São Paulo, SP

Introdução: A gamopatia monoclonal de significado indeterminado (MGUS) é definida pela presença de proteína M sérica $< 3,0$ g/dL e/ou urinária < 1 g/24h, infiltração plasmocitária medular menor que 10% e ausência de danos aos órgãos e tecidos. O achado de gamopatia monoclonal detectado na eletroforese de adultos saudáveis não é um evento raro, e que aumenta com a idade. A prevalência é de 1.7% na faixa etária 50-59 anos, e pode chegar a mais de 5% acima de 70 anos. Em um estudo transversal com doadores regulares de sangue, a prevalência de gamopatia monoclonal foi de 1,3%. **Objetivos:** Identificar a prevalência de ga-

mopatia monoclonal em doadores de sangue maiores de 40 anos no hemocentro da Santa Casa de São Paulo. **Métodos:** Estudo de prevalência entre doadores de sangue com > 40 anos que se dirigiram ao Hemocentro da Santa Casa de São Paulo. Os que aceitaram participar, foram submetidos a uma entrevista e coleta de amostras de sangue periférico, nas quais foram realizados exames de eletroforese de proteínas séricas (EFP) por técnica de capilaridade. O soro remanescente foi congelado para subseqüentes estudos, caso seja identificado componente monoclonal. O estudo teve aprovação do comitê de ética da Santa Casa de SP e os participantes assinaram TCLE. **Resultados:** De outubro de 2011 até julho de 2012 foram coletadas 564 amostras de soro de doadores, analisadas por EFP. Foram identificados dois indivíduos que apresentavam pico monoclonal, migrando para região das gamaglobulinas, representando uma taxa de detecção de 0,35% das amostras estudadas. Dentre estes um é do sexo masculino e tem 51 anos. É casado, branco, procedente de São Paulo e natural de Palmital-SP. A outra pessoa com pico monoclonal tem 61 anos, é do sexo feminino e é indígena e divorciada, natural da Bolívia e procedente de São Paulo. Dentre os demais doadores, 36,85% têm entre 40 e 45 anos, 21,12% têm entre 46 e 50 anos, 15,29% têm entre 51 e 55 anos, 8,25% têm entre 56 e 60 anos e 4,47% têm entre 61 e 65 anos. Predominou a participação do sexo masculino (58,10%). A maioria (75,7%) é procedente do estado de São Paulo, sendo que 31,65% são naturais do Município de São Paulo, havendo doadores naturais de mais de 250 cidades. **Conclusão:** Em recente publicação (La Raja *et al*) de um grupo italiano a taxa de detecção foi de 1,3% em 8.197 doadores de sangue num período de oito anos. O achado do nosso estudo foi de 0,35% em 564 doadores coletados no período de nove meses. Não se conhecem estudos na população brasileira, e mesmo não sendo possível extrapolar tais dados, supomos que a prevalência no país seja mais baixa do que a encontrada em outros países.

0611

Prevalência de novas bandas oligoclonais em pacientes com mieloma múltiplo que obtiveram Resultados melhores ou iguais à resposta parcial muito boa após o tratamento padrão ou com quimioterapia em altas doses seguida de transplante autólogo de células tronco hematopoiéticas

Silva LS¹, Crusoe EQ¹, Quero AA¹, Almeida MS¹, Miranda EC², Peres AL¹, Cury P¹, Higashi F¹, Camargo MP¹, Chiattonne CS¹, Hungria VT¹

¹ Santa Casa de Misericórdia de São Paulo – ISCSPP, São Paulo, SP

² Central de Análise de Dados e Estatística, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: As bandas oligoclonais são proteínas monoclonais distintas das originalmente identificadas durante o diagnóstico de mieloma múltiplo (MM). Estas passaram a ser mais frequentemente observadas após a obtenção de melhores respostas ao tratamento. Alguns autores consideram que o aparecimento dessas bandas confere melhor prognóstico e que pode refletir melhor reconstituição imunológica. O uso de novas terapias, além do uso de quimioterapia em altas doses para o tratamento do MM, permitiu um grande incremento nas respostas. Ainda não foi evidenciado na literatura qual é a exata prevalência do surgimento de bandas oligoclonais em paciente com MM que obtiveram resposta melhor que resposta parcial muito boa (RPMB) após uso de diferentes esquemas de tratamento, e se existem diferenças entre populações diversas. **Objetivo:** Primário: identificar a prevalência do surgimento de bandas oligoclonais por eletroforese de proteínas (EFP) e imunofixação sérica e urinária (IFs e IFu) em um grupo de pacientes com MM tratados e que obtiveram > RPMB na Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (ISCMSP). Secundário: determinar se o surgimento de tais bandas influencia no prognóstico desses

pacientes. **Métodos:** Trata-se de uma coorte retrospectiva que incluiu pacientes com MM que obtiveram resposta após tratamento > RPMB. Foram compilados dados dos prontuários dos pacientes com MM e identificados o surgimento de bandas oligoclonais distintas das iniciais por técnica de EFP, IFs e IFu. Posteriormente, serão realizadas novas coletas de sangue daqueles identificados com positividade para o surgimento de bandas oligoclonais com o intuito de acompanhar a evolução e duração da manutenção dessas bandas. Este estudo teve aprovação do comitê de ética local. **Resultados:** A mediana de idade dos pacientes ao diagnóstico foi 61 (34-87) anos e 56% são do sexo masculino. O isotipo IgG foi o componente monoclonal mais frequente (62,5%). A classificação prognóstica de DS foi: 5% estádios IA/B, 7,5% IIA/B e 85% IIIA/B. Quanto ao ISS, 42% foram estadios I, 30% II e 22,5% III. A prevalência de novas bandas oligoclonais identificadas por EFP e IF foi observada em 16 casos (40%) do total de 40 estudados até o momento. A sobrevida livre de progressão, até o momento, não foi diferente entre os grupos com ou sem oligoclonalidade (p= 0,40). Surpreendentemente, quando ajustada por gênero, a SLP apresentou diferença significativa para os pacientes do sexo feminino que obtiveram o surgimento de novas bandas (p= 0,004). **Conclusão:** Esta é uma análise preliminar da identificação de bandas oligoclonais em pacientes com MM e que obtiveram respostas > RPMB. A prevalência encontrada está próxima ao valor do desenho do estudo, que foi de 35%. Não pode comparar com a literatura já publicada? O seguimento desse estudo visa determinar a prevalência desses casos em grupo de pacientes com MM e resposta > RPMB de um serviço especializado, além de tentar correlacionar a influência de tais bandas com o prognóstico dos pacientes.

0612

Experiência com o esquema de quimioterapia dcep adaptado para uso ambulatorial em pacientes com mieloma múltiplo em progressão: análise preliminar de toxicidade

Quero AA, Crusoe EQ, Peres AL, Almeida MS, Cury P, Higashi F, Camargo MP, Chiattonne CS, Hungria VT

Santa Casa de Misericórdia de São Paulo – ISCSPP, São Paulo, SP

Introdução: Apesar da melhora das taxas de resposta terapêutica e de sobrevida dos pacientes com mieloma múltiplo (MM) na última década com a introdução das novas drogas, o mieloma segue incurável e com múltiplas recidivas. O uso de esquemas quimioterápicos mielotóxicos, endovenosos e de infusão contínua é uma opção para pacientes em progressão de doença. A adaptação do esquema DCEP para uso ambulatorial visa eliminar a necessidade de internação hospitalar frente a disponibilidade limitada de leitos na rede pública de saúde. **Objetivos:** Demonstrar a experiência da Santa Casa de São Paulo no uso do esquema DCEP adaptado para uso ambulatorial, verificando a tolerabilidade e eficácia associadas a redução de doses. **Métodos:** Estudo piloto, prospectivo, de série de casos. Oito pacientes com MM do ambulatório de Hematologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo foram tratados no período de setembro de 2011 a julho de 2012. A mediana de idade foi de 62 anos (42 a 73), todos com estadiamento inicial avançado (Durie Salmon III A ou B). Foram incluídos pacientes com 1 a 8 anos de diagnóstico, que receberam de 1 a 5 linhas de tratamento prévio, incluindo combinações de agentes alquilantes e talidomida, em recidiva atual e com indicação clínica de tratamento. Os pacientes receberam de um a quatro ciclos de quimioterapia endovenosa por acesso periférico nas doses: Dexametasona 40mg/dia em 15 minutos, Ciclofosfamida 300mg/m²/dia em uma hora, Etoposide 30mg/m²/dia em 30 minutos e Cisplatina 10mg/m²/dia em 30 minutos. Cada ciclo foi realizado por 4 dias consecutivos com intervalo de 30 dias. O resgate com fator de crescimento de granulócitos foi necessário em todos os pacientes

baseado na monitorização de neutropenia (abaixo de 500 células). **Resultados:** Na análise dos tratamentos prévios, cinco pacientes receberam bortezomib, seis foram tratados com talidomida e quatro foram submetidos a TMO autólogo. Ocorreram quatro óbitos, três por progressão e apenas um em decorrência de toxicidade (sepse). No entanto, toxicidade hematológica graus 3/4 e casos de infecção não-grave ocorreram em todos os casos, com necessidade de antibióticoterapia, suporte transfusional e uso de fator de crescimento de granulócitos. Seis pacientes receberam pelo menos 2 ciclos de DCEP, com progressão de doença em vigência de tratamento observada em 3 casos, doença estável em 3 casos, resposta parcial em 1 caso e um óbito sem avaliação. A sobrevida global mediana foi de 2,6 (1 a 6,6 meses). **Discussão:** Apesar do pequeno número de pacientes incluídos nesta análise prospectiva, e do pouco tempo de acompanhamento, foi possível demonstrar a viabilidade do DCEP adaptado para uso ambulatorial como opção de esquema de resgate para pacientes com MM recidivado. Foi constatada neutropenia grau 3 e 4 em todos os pacientes, mas com possibilidade de manejo ambulatorial dessas complicações. A análise de eficácia será realizada futuramente quando mais dados estiverem disponíveis.

0613

Mieloma múltiplo: avaliação da manutenção com talidomida pós TMO autólogo

Furlanetto MA, Oliveira MM, Amaral SN, Breunig RC, Weber CS, Daudt LE, Bittencourt RI

Serviço de Hematologia e TMO, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

Introdução: O mieloma múltiplo (MM) é a segunda neoplasia hematológica em frequência, prevalecendo acima dos 60 anos. Embora absolutamente tratável, ainda é doença incurável, e tentativas terapêuticas para aumentar e melhorar a sobrevida vão desde o tratamento de indução até consolidação/ manutenção após a terapia de altas doses com Melfalano. O transplante autólogo de células tronco hematopoiéticas (TACTH) continua sendo o padrão ouro nos pacientes com menos de 65 anos e sem comorbidades impeditivas. O TACTH é capaz de converter respostas parciais (RP) ou quase completas (RqC) em resposta completa (RC), que é o alvo da terapia. Ausência de RC após as altas doses de Melfalano, pode ser convertida usando temporariamente manutenção com agentes imunomoduladores, como a Talidomida ou seu análogo, a Lenalidomida. No início dos anos 2000, o *International Myeloma Working Group* (IMWG) encabeçou vários estudos visando incrementar a sobrevida livre de doença (SLD) e sobrevida global (SG). Na época, a manutenção com Talidomida foi adotada para todos portadores de MM após TMO, independente da resposta obtida. Ao longo desta década, os estudos vêm apontando benefício de terapia de manutenção apenas para aqueles que não estão em RC após o TACTH, sem benefício adicional para aqueles com RC nos 100 dias pós TMO. O Serviço de Hematologia do HCPA é um centro de referência para tratamento do MM, incluindo o TACTH como terapia de primeira linha. Baseados nos dados deste procedimento, analisamos dois grupos: o que realizou manutenção com a talidomida e o grupo que não, verificando as SLD e SG nesses pacientes. **Métodos:** Análise retrospectiva, através de revisão do prontuário eletrônico dos pacientes com MM submetidos a TACTH entre jan/2005 a dez/2011 e que mantiveram acompanhamento posterior ao transplante. Os dados foram registrados em planilhas de Excel, tabulados e analisados pelo programa SPSS para estatística e avaliação das SLD e SG. **Resultados:** Incluídos 76 pacientes, sendo 39 (51,3%) do sexo masculino, com idade mediana de 55 anos (33-65). Trinta pacientes utilizaram manutenção, com doses de talidomida variando de 50-200 mg/dia, com média

de uso de 16,9 meses (desvio padrão: 12,8). Somente 2/30 estavam em RC após transplante. A SLD do grupo em manutenção foi 38,8 meses enquanto naqueles sem manutenção 30,7 meses ($p 0,07$). A SG foi, respectivamente, 44 e 35 meses ($p 0,068$). Dos 30 pacientes submetidos a terapia de manutenção, 10 apresentaram RqC e converteram pós a manutenção para RC. **Conclusão:** Baseado na análise dos dados, não houve diferença significativa no desfecho sobrevida livre de doença e sobrevida global nos grupos que fizeram ou não manutenção com talidomida pós TACTH. Provavelmente, pelo pequeno número de pacientes avaliados neste estudo não foi possível estabelecer essa relação.

0614

Uso do bortezomib em pacientes com mieloma múltiplo tratados no Hospital de Transplantes Euryclides de Jesus Zerbini/Hospital Brigadeiro

Nunes RF, Passos RA, Galassi N, Perobelli LL

Hospital de Transplantes Dr. Euryclides de Jesus Zerbini/Hospital Brigadeiro, São Paulo, SP

Introdução: O Bortezomib pertence a classe dos inibidores de proteasoma e o seu uso no tratamento dos pacientes com mieloma múltiplo trouxe um grande incremento na sobrevida destes pacientes. Inicialmente empregado como agente único em pacientes recidivados/refratários ao longo dos anos passou a ser utilizado em combinação com outros agentes terapêuticos no tratamento de indução para os pacientes elegíveis ou não ao transplante de medula óssea autólogo (TMO). O presente trabalho objetiva descrever o uso do bortezomib no Hospital de Transplantes Euryclides de Jesus Zerbini/Hospital Brigadeiro no período de 01/12/2008 a 01/08/2012. **Métodos:** foram analisados de forma retrospectiva os prontuários de 37 pacientes portadores de mieloma múltiplo que receberam bortezomib em algum momento do seu tratamento. **Resultados:** Foram avaliados 16 pacientes do sexo masculino e 21 pacientes do sexo feminino com idade entre 40 e 76 anos. O componente monoclonal IgG Kappa foi o mais prevalente seguido de IgG Lambda, cadeia leve Kappa, IGA Lambda, IGA Kappa e não secretor. Em relação ao estadiamento de Durie e Salmon os pacientes se distribuíram da seguinte forma: 20 pacientes estadiamento IIIA, 12 pacientes estadiamento IIIB, 03 pacientes estadiamento IIA e 02 pacientes estadiamento IA. ISS III foi observado em 17 pacientes. O Bortezomib foi utilizado como tratamento de primeira linha em 16 pacientes sendo todos estes elegíveis para TMO e seis pacientes o receberam no período de indução pré TMO. Dezoito pacientes receberam tratamento com bortezomib na recidiva/progressão da doença sendo que destes 11 pacientes apresentavam recidiva/progressão pós TMO. O esquema terapêutico mais utilizado foi VCD (bortezomib/ciclofosfamida/dexametasona), seguido pelo VD (bortezomib/dexametasona), VTD (bortezomib/talidomida/dexametasona), VCTD (bortezomib/ciclofosfamida/ talidomida/dexametasona). A neuropatia periférica foi o principal evento adverso com necessidade de redução da dose em 13 pacientes sendo que a dose mínima utilizada foi de 0,7mg/m² em apenas 01 paciente. Seis pacientes receberam dois tratamentos com bortezomib e 02 pacientes três tratamentos. A grande maioria dos pacientes apresentou algum grau de resposta ao esquema terapêutico com bortezomib e houve recuperação da função renal de todos os 5 pacientes com insuficiência renal ao diagnóstico e que receberam bortezomib em primeira linha incluindo um paciente com insuficiência renal dialítica. **Conclusão:** O uso do bortezomib é seguro e eficaz tanto no tratamento de indução quanto no mieloma múltiplo recidivado/refratário. Estudos clínicos em andamento irão avaliar o seu papel na consolidação e na manutenção do tratamento do mieloma múltiplo. A neuropatia periférica é o principal evento adverso o qual poderá ser minimizado com a administração subcutânea que é menos neurotóxica com a mesma eficácia.

SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS

0615

Mutações no gene *TET2* são frequentes nas síndromes mielodisplásicas, mas não nas neoplasias mieloproliferativas crônicas associadas à progressão leucêmica

Coutinho DF¹, Filho RASL¹, Ayres-Silva JP¹, Monte-Mor BC¹, Bonamino M², Zalberg IR¹

¹ Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplantes de Medula Óssea - CEMO, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

² Centro de Pesquisas - CPQ, Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

As Síndromes Mielodisplásicas (SMD) e as Neoplasias Mieloproliferativas Crônicas Ph negativas (NMPC) podem ser caracterizadas por medula normo ou hiperclular, contagem anormal de células sanguíneas e capacidade de transformação para Leucemia Mielóide Aguda (LMA). Enquanto pacientes com SMD cursam frequentemente com citopenias periféricas, pacientes com NMPC apresentam expansão da linhagem mielóide. A detecção de anormalidades citogenéticas características das SMD auxilia seu diagnóstico, entretanto 50% dos casos apresentam cariótipo normal. Nas NMPC, a mutação p.Val617Phe (*JAK2 V617F*) está presente em virtualmente todos os pacientes com Policitemia Vera (PV) e em cerca de 50% dos casos de Trombocitemia Essencial (TE) e Mielofibrose primária (MF). Recentemente, alterações em genes envolvidos em vias de transdução de sinais e regulação epigenética foram identificadas em neoplasias mielóides por sequenciamento de próxima geração. No entanto, a relevância destas alterações para a clínica das NMPC e SMD ainda não foi estabelecida. Neste trabalho, avaliamos a presença de mutações nos genes *IDH1*, *IDH2*, *TET2*, *CBL*, *JAK2* e *MPL* em pacientes com SMD e NMPC/LMA e discutimos a importância clínica desses achados. A caracterização molecular de 5 pacientes com NMPC foi através da determinação do *status* mutacional do éxon 14 do gene *JAK2* (mutação *V617F*) e *MPL* (éxon 10). Para o mesmo grupo, mutações em *IDH1/2* (éxon 4) e *TET2* (éxons 3-11) foram avaliadas em amostras pareadas referentes às fases crônica e leucêmica da doença. Pacientes com SMD, 11 casos pediátricos e 4 adultos, foram analisados quanto à presença de mutações nos genes *IDH1/2*, *TET2* e *CBL*. A identificação da mutação *JAK2 V617F* foi realizada por PCR alelo-específico, enquanto regiões exônicas dos demais genes foram estudadas por sequenciamento direto de Sanger. Os eletroferogramas foram analisados pelo *software Mutation Surveyor* e os Resultados obtidos foram confrontados com as sequências referências disponíveis em bancos de dados genômicos. Dois dos cinco casos de NMPC/LMA são positivos para a mutação em *JAK2*. Em um paciente negativo para *JAK2 V617F*, foi encontrada uma mutação em *TET2* tanto na amostra pré- quanto na pós-transformação leucêmica. Alterações nos genes *IDH1*, *IDH2* e *MPL* não foram observadas neste grupo. Mutações em *TET2* foram identificadas em 9 dos 15 indivíduos com SMD avaliados (60% dos casos). Dessas nove alterações, sete são mutações missense, uma ocorre em sítio de *splicing* e a outra é uma mutação ainda não descrita que gera um *stop codon* prematuro, resultando na formação de uma proteína truncada. O impacto clínico desta nova mutação não é claro, já que ainda não se sabe se existe relação entre o tipo de mutação em *TET2* e valor prognóstico diferenciado. Ainda neste grupo, foi observado um paciente com mutação no gene *IDH1* (p.Arg132His), porém não foram encontradas alterações nos genes *IDH2* e *CBL*. A análise do *status* mutacional do gene *TET2* foi importante para a caracterização de doença clonal em pacientes negativos para outras alterações, tanto em NMPC, quanto em SMD, mas não parece estar associada à evolução para LMA. Este trabalho eviden-

ciou ainda uma alta frequência de mutações em *TET2* em SMD. O aumento da coorte de estudo e a análise de outros marcadores diagnósticos e preditivos da evolução clínica estão em andamento.

0616

Genotoxicidade e estresse oxidativo em pacientes com síndrome mielodisplásica

Goncalves RP¹, Neto PF¹, Barbosa MC¹, Santos TE¹, Souza IP¹, Arruda AB¹, Feitosa RP¹, Magalhães SM¹, Cordeiro J¹, Machado RP²

¹ Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

² Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE, Fortaleza, CE

A hematopoese ineficaz e a necessidade transfusional desempenham um importante papel no desenvolvimento da sobrecarga de ferro na Síndrome Mielodisplásica (SMD), o que catalisa a produção de espécies reativas do oxigênio (EROS). O objetivo do estudo foi avaliar o dano no DNA e o estresse oxidativo em pacientes com SMD ao diagnóstico. Participaram do estudo 28 pacientes adultos, de ambos os sexos, com diagnóstico de SMD, acompanhados no serviço de hematologia de um hospital de referência de Fortaleza – Ceará. Foram excluídos pacientes sem diagnóstico confirmado de SMD, pacientes com infecção por HbSAg, HCV, HTLV e/ou HIV, em uso de vitaminas antioxidantes e/ou eritropoietina e com hábitos tabagista e/ou etilista. Um grupo controle foi formado por 30 indivíduos aparentemente saudáveis, com idade e sexo pareados. A análise de dano ao DNA foi realizada pelo ensaio do Cometa, baseando-se na técnica de eletroforese celular em microgel. O malonaldeído (MDA) plasmático foi quantificado por metodologia espectrofotométrica. A atividade das enzimas catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx) foi determinada em hemolisado pelo *kit* Ransel Glutathione Peroxidase® e por método espectrofotométrico, respectivamente. Os pacientes com SMD apresentaram valores médios de índice de dano e MDA significativamente elevados em relação ao grupo controle. A atividade da enzima antioxidante GPx foi significativamente menor nos pacientes com SMD em relação ao grupo controle. A atividade da CAT não diferiu estatisticamente entre os grupos. Os valores de ID correlacionaram-se positivamente com os níveis de MDA e negativamente com a atividade de GPx. Não houve correlação entre o ID e a atividade de CAT. Os Resultados do presente estudo reforçam a existência de um estado hiperoxidativo em pacientes com SMD ao diagnóstico e a utilização do ensaio do Cometa e de marcadores de estresse oxidativo como fatores de prognóstico nesses pacientes.

Apoio financeiro: FUNCAP

0617

Fish analysis for *TET2* deletions in myeloid malignancies: correlation with karyotype abnormalities

Oliveira FM¹, Lucena-Araujo AR¹, Silva FP¹, Alves AP¹, Falcão RP¹, Simões BP¹, Calado RT¹, Mai S², Rego EM¹

¹ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP USP, Ribeirão Preto, SP

² The University of Manitoba, Manitoba Institute of Cell Biology, Winnipeg, Manitoba, Canada

TET2, a putative tumor suppressor gene, located at band 4q24 have been reported as an important element in the pathogenesis of myeloid malignancies including myelodysplastic syndromes (MDS), myeloproliferative neoplasms (MPN), and acute myeloid leukemia (AML). The loss of *TET2* is associated with a progressive enlargement of the hematopoietic stem cell compartment and eventual myeloproliferation. *TET2* mutations are frequently acquired during the progression of MPN or MDS to secondary AML and this character-

istic has been associated with low overall survival in patients with AML. We investigated the prevalence of TET2 deletion, by using a new FISH probe developed by Agilent Technologies (SureFISH) in patients with MDS, AML and myeloproliferative neoplasms and their association with cytogenetic information (*G-banding* analysis). Additionally we applied arrayCGH analysis in order to confirm the loss of TET2 on the samples studied. A total of 362 patient bone marrow samples were entered in this study, including MDS (n = 96), AML (n = 89) and MPN (n = 177) [polycythemia vera (n = 54), essential thrombocythemia (n = 52) and unclassified, MPNu, n = 71)]. *G-banding* was obtained using standard procedures. Interphase FISH analysis was performed from cryopreserved bone marrow pellets, using SureFISH 4q24 TET2 probe (Agilent Technologies). At least 200 nuclei were scored per sample by using an epifluorescence microscope Axiomager M2 (Carl Zeiss, USA) coupled to the Metafer Slide Scanning System, allowing scan of 8 slides (MetaSystems, USA). Karyotypes were described according to International System for Human Cytogenetic Nomenclature, 2009. At least 20 metaphases were screened in each patient. For arrayCGH, 44k (n = 8), 60mer oligonucleotide microarrays were used (Human Genome CGH Microarray, Agilent Technologies, USA). ArrayCGH analyses were performed essentially as described in the protocol of the manufacturer. Among the patients investigated, normal karyotype was observed in 45.8% of MDS (n = 44), 43.8% of AML (n = 39) and 46.3% of MPN (n = 82). According to our records all MPN patients presented *JAK2 V617F* mutation. Abnormalities of 4q24 (deletions, translocations, or duplications) are associated with another chromosomal abnormality in 6 patients by conventional cytogenetics (2 MDS, 1 AML and 3 MPN). Interphase FISH analysis using SureFISH 4q24 TET2 probe revealed deletion of TET2 in 21 patients (6 among cytogenetically abnormal and 15 in patients with normal karyotype). ArrayCGH analysis revealed a cryptic deletion of the region 4q24 in 8 patients with myeloid malignancies (3 MDS, 1 AML and 4 MPN). The size of the TET2 deletion varied from 11.4 to 17.7 Mb, by arrayCGH analysis. Considering the significant high cost of determining the mutational status of TET2 in patient samples by using conventional sequencing methods and sometimes the lack of regular use of SNP/aCGH arrays methodologies, FISH for detection of TET2 abnormalities may become a potentially useful clinical tool. The search for alterations in TET2 gene may be important for prediction of prognosis in normal/ altered AML patients' karyotype or in the disease evolution of patients with MNP and MDS. **Financial Support:** FAPESP (2011/01647-2).

0618

Citopenia refratária de significado indeterminado em lúpus eritematoso sistêmico: relato de caso

Duarte FB¹, Filho FDR², Pitombeira MH², Ribeiro RA³, Barbosa MC², Santos TE², Goncalves RP²

¹ Hospital Universitário Walter Cantídeo – HUWC, Fortaleza, CE

² Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

³ Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE, Fortaleza, CE

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune que atinge múltiplos sistemas orgânicos, incluindo a medula óssea. Os dados sobre alterações na medula óssea em pacientes com LES são escassos e inconsistentes, no entanto alterações displásicas em todas as linhagens hematopoéticas e citopenias periféricas têm sido descritas e parecem ser reversíveis com a remissão da doença. A citopenia refratária de significado indeterminado (ICUS) é caracterizada por menos de 10% de displasias e menos de 5% de blastos na medula óssea. Apenas um pequeno número de casos foi publicado e o conhecimento sobre seus mecanismos e prognóstico é escasso. O objetivo do estudo foi reportar um caso de uma paciente com citopenia refratária persistente e displasia leve nas três linhagens hematopoéticas, quadro compatível com ICUS e, após três anos de

acompanhamento, apresentou positividade para FAN e evoluiu com glomerulonefrite. Paciente do sexo feminino, 18 anos, estudante, foi atendida em clínica médica com hemograma apresentando anemia leve (hemoglobina=10,7 g/dL, hematócrito=32,5%), com contagem de leucócitos e plaquetas normais (leucócitos=3500/mm³, plaquetas=242.000/mm³). O protocolo de exclusão para SMD foi realizado, sendo descartadas deficiências nutricionais (dosagens de ferro, ácido fólico e vitamina B12 normais), exposição a agentes citotóxicos, infecções virais (sorologia para hepatite B e C, HIV, toxoplasmose e citomegalovírus negativa), disfunções metabólicas, doenças auto-imunes (FAN e Coombs direto negativos), hemoglobinúria paroxística noturna (teste de Ham negativo) e anemia aplástica. Ao mielograma visualizou-se medula óssea hipocelular, com diseritropoese (<10%), disgranulopoese (<10%) e dismegacariopoese (<10%). A coloração de Pearls revelou ferro de depósito diminuído. Não havia espessamento na rede de reticulina nem foram encontrados parasitas. Foi realizada suplementação com ferro e houve persistência da anemia. Dois anos após o primeiro atendimento, o hemograma apresentou-se ainda com anemia leve (hemoglobina=10,8 g/dL, hematócrito=32,3%), leucopenia (leucócitos=2350/mm³) e plaquetas de 249.000/mm³. A citogenética clássica revelou cariótipo normal (46,XX). O protocolo de exclusão para SMD foi repetido e observou-se positividade para Fator Anti-Nuclear (FAN), com título 1: 640. Após três meses o exame foi realizado novamente apresentou-se ainda reagente, no entanto, com título 1: 2560. A paciente foi encaminhada para o setor de reumatologia, com hipótese diagnóstica de Lúpus eritematoso sistêmico (LES) e evoluiu com glomerulonefrite. No nosso caso específico, houve um diagnóstico inicial de ICUS em decorrência do FAN negativo associado com citopenias periféricas refratárias e persistentes com o achado de discreta displasia nas três linhagens hematopoéticas. Há a possibilidade de termos desde o início um caso de LES com FAN negativo persistente. No entanto, os pacientes FAN negativo parecem constituir apenas 5% da população com LES. Queremos ressaltar neste caso que, baseado nas classificações morfológicas das doenças hematológicas neoplásicas (FAB e OMS), referencial de diagnóstico, muitas vezes é necessário ter cautela e compreender da necessidade de um seguimento periódico.

0619

Elevada expressão de P53 em paciente com síndrome mielodisplásica de IPSS intermediário-1

Duarte FB¹, Kaufman J¹, Filho FDR², Pitombeira MH², Ribeiro RA³, Barbosa MC², Santos TE², Goncalves RP², Vasconcelos PRL²

¹ Hospital Universitário Walter Cantídeo – HUWC, Fortaleza, CE

² Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, CE

³ Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE, Fortaleza, CE

A Síndrome Mielodisplásica (SMD) é definida como um grupo de doenças clonais das células progenitoras hematopoéticas que se caracterizam por apresentar hematopoese ineficaz, citopenias, displasias em uma ou mais linhagens e risco de evolução para leucemia mielóide aguda (LMA). O gene *Tp53* é um gene supressor de tumor cujo produto de transcrição é a proteína p53, diretamente relacionada com a regulação do ciclo celular e indução de apoptose. A forma ativa da proteína p53 tem vida média muito curta, o que torna extremamente difícil a sua detecção. Ao contrário, as formas mutadas ou inativas tendem a acumular-se no núcleo das células, podendo ser facilmente detectadas por Métodos imunológicos como a imunohistoquímica. Assim, níveis elevados da proteína p53 estão associados a mutações no gene *Tp53* e, consequentemente, à parada da regulação do ciclo celular, podendo favorecer a proliferação celular descontrolada e o surgimento de mutações adicionais, contribuindo para a progressão da SMD e para resistência ao tratamento. Mutações nesse gene têm sido frequentemente

relatadas na SMD com IPSS de alto risco, no entanto, nos grupos de IPSS baixo risco e intermediário-1, esse achado é raramente encontrado. O objetivo do estudo foi reportar um caso de um paciente com diagnóstico de SMD com IPSS intermediário-1 que apresentou elevada expressão de p53 e evolução desfavorável. Paciente do sexo masculino, 70 anos, foi atendido em clínica médica com hemograma apresentando anemia (hemoglobina de 11,4 g/dL e hematócrito de 34,4%), leucopenia (3030/mm³) e trombocitopenia (91.300/mm³). A contagem de reticulócitos e a dosagem de desidrogenase láctica (LDH) estavam normais e o teste de Coombs direto foi negativo. Ao mielograma, visualizou-se medula óssea hiperplásica com diseritropoese moderada (40%), disgranulopoese leve (10%) e dismegacariopoese moderada (40%). O percentual de blastos na medula óssea foi de 0,2% e o ferro medular estava normal. A biópsia óssea revelou fibrose de grau I/II difusa. O cariótipo foi normal (46, XY) e, após a realização do protocolo de exclusão, o diagnóstico final foi SMD e a estratificação de risco do paciente segundo o IPSS foi intermediário-1. A imunohistoquímica revelou marcação nuclear forte (40%) para p53 em precursores granulocíticos. Foi realizada prova terapêutica com vitamina B12 e ácido fólico e, posteriormente, com eritropoietina e fator estimulador de colônia de granulócitos. O paciente evoluiu com elevada necessidade transfusional e 10% de blastos no sangue periférico. Iniciou-se tratamento com lenalidomida. O paciente logo evoluiu com embolia respiratória e faleceu de insuficiência respiratória. O presente estudo apresentou o relato de caso de um paciente com SMD de risco intermediário-1 com forte marcação nuclear para p53 (40%) ao diagnóstico, que cursou com elevada necessidade transfusional, não apresentou resposta ao tratamento com lenalidomida e rapidamente evoluiu para óbito. Este achado sugere que a expressão de p53 possa fornecer informações prognósticas precoces em pacientes com SMD, independente da estratificação de risco e auxiliar na escolha terapêutica.

0620

Expressão do gene VEGFA em pacientes com SMD e LMA

Palodetto B, Corrocher FA, Roversi FM, Baratti MO, Campos PM, Traina F, Saad ST

Centro de Hematologia e Hemoterapia, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

A angiogênese tem papel fundamental para o crescimento, disseminação e metástase de tumores sólidos. Doenças malignas hematológicas não se desenvolvem da mesma maneira que tumores sólidos assim, o papel da angiogênese para o crescimento e desenvolvimento não está elucidado. Entretanto, estudos recentes mostraram um aumento da densidade vascular em amostras de medula óssea de pacientes com leucemia mielóide aguda (LMA) e esse aumento foi relacionado à menor sobrevida e pior prognóstico dos pacientes, sugerindo que maior vascularização forneça uma maior quantidade de oxigênio e nutrientes, facilitando expansão clonal das células na medula. O "switch" angiogênico é mediado por diversos fatores pró e anti angiogênicos, dentre eles um fator pró-angiogênico muito estudado é o VEGFA. O gene VEGFA codifica o fator de crescimento vascular endotelial A que é uma citocina multifuncional que quando secretada estimula as células a proliferar, migrar e aumentar sua permeabilidade às proteínas plasmáticas. Em doenças hematológicas, investigações *in vitro* e *in vivo* revelaram que VEGFA esteve presente em alta concentração na medula óssea de pacientes com LMA e SMD quando comparado com grupo controle e estudos recentes sugerem que a progressão e a patogênese de doenças hematológicas estejam associadas à angiogênese. Entretanto, os achados sobre a expressão de VEGFA são conflitantes; há relatos de que a expressão em SMD aumente com a progressão da doença e relatos de que a expressão só esteja aumentada na fase inicial. Resultados

de microarranjo realizado pelo nosso grupo identificaram diversos transcritos com expressão diferenciada em células CD34+ de pacientes com SMD, dentre eles, hiperexpressão do gene VEGFA. Para validar nossos Resultados de microarranjo, selecionamos amostras de medula óssea total de 19 pacientes com SMD (De acordo com a classificação FAB, Baixo risco: Anemia Refratária=9, Anemia Refratária com Sideroblastos em Anel=3; Alto Risco: Anemia Refratária com Excesso de Blastos =5 Anemia Refratária com Excesso de Blastos em Transformação=2), 10 pacientes com LMA e 9 doadores. Selecionamos também amostras de células CD34+ da medula óssea de 8 pacientes com SMD, (De acordo com a classificação FAB, Baixo risco: Anemia Refratária=3, Anemia Refratária com Sideroblastos em Anel=4; Alto Risco: Anemia Refratária com Excesso de Blastos =1), e 3 doadores. Após análise por PCR quantitativo, utilizando o gene HPRT como endógeno normalizador, encontramos maior expressão de VEGFA em amostras de medula óssea total de pacientes com SMD baixo risco. Encontramos também uma diferença estatística (Mann-Whitney test) entre a expressão de VEGFA entre os grupos de SMD alto risco (p=0.031) e LMA (p=0.043) comparados ao grupo controle. Apesar de termos um número muito pequeno de amostras de CD34+, encontramos tendência ao mesmo padrão de expressão encontrado em amostras de medula óssea total. Esses Resultados corroboram com achados onde a expressão de VEGFA é maior no estágio inicial da doença, indicando que a angiogênese não é um fator determinante para a progressão.

0621

Hematopoietic cell kinase (HCK) is overexpressed in myelodysplastic syndrome (MDS) patients and involved in proliferation and differentiation

Roversi FM, Machado-Neto JA, Palodetto B, Corrocher FA, Baratti MO, Campos PM, Costa FF, Traina F, Saad ST

Centro de Hematologia e Hemoterapia, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

The pathogenesis of MDS is complex and remains elusive. The molecular characterization of this disease has been a tool to better understand it. Through microarray analysis in CD34+ cells from RARS-MDS patients, our group recently identified new possible target genes involved in MDS pathophysiology. One interesting overexpressed gene found in this microarray was the *HCK* gene, a Src kinase family member. This family integrates signaling from a variety of cell-surface receptors, such as RTK, chemokine, EPO, MET and CXCR4, to regulate cellular responses including proliferation, differentiation, apoptosis and migration. *HCK* is restrictedly expressed in hematopoietic cells and overexpressed in solid cancer and acute lymphoid leukemia but its functional role in MDS is still unknown. Here, we analyzed by qPCR *HCK* mRNA expression in CD34+ and total bone marrow (BM) cells from 54 MDS patients (FAB 39 low-risk; 15 high-risk) and 20 normal donors. Data were expressed as median [min-max]. We evaluated the *HCK* role on proliferation and apoptosis by silencing this gene in U937 myeloid cell. Cell growth was measured by MTT assay. Annexin-V was evaluated by apoptosis. These assays were done in cells treated or not with rapamycin. We also analyzed *HCK* expression during granulocytic and erythroid differentiation of leukemia cell lines. Granulocytic differentiation was induced in NB4 or HL60 cells by ATRA. Erythroid differentiation was induced in KU812 cells by HE/HU. We observed a significant increase *HCK* mRNA expression in CD34+ and BM MDS cells compared to normal cells (5.5 [2.0-12.9] vs 1.1 [0.6-1.6] and 1.8 [0.1-5.9] vs 0.9 [0.1-3.6] respectively; *P* < 0.05). *HCK* mRNA expression was higher in low-risk compared to high-risk MDS cells. In U937 cells, *HCK* inhibition resulted in a significant decrease in proliferation compared to control cells (*P* < 0.0001). Combination of *HCK* inhibition and rapamycin treatment, PI3K/mTOR pathway inhibitor, showed no reduction in

cell proliferation compared to *HCK* inhibition alone. Apoptosis was unaffected by *HCK* knockdown. *HCK* expression was significantly increased in NB4 or HL60 cells after granulocytic differentiation and in KU812 cells after erythroid differentiation. Besides, *HCK mRNA* was significantly up-regulated during erythroid differentiation of MDS low-risk CD34⁺ cells but not in normal CD34⁺ cells. Considering that some transmembrane receptor (CXCR4, MET, chemokine) expression is altered in MDS and their downstream pathway is mediated by Src family/PI3K, our results suggest that *HCK* overexpression in MDS may be related to alteration in the expression of some of these receptors. Loss of *HCK* expression may contribute to disease progression by skewing the balance between proliferation and differentiation, perhaps giving malignant cells a proliferative advantage. Further, in U937 cells, *HCK* inhibition decrease proliferation through PI3K/mTOR pathway since combination of *HCK* inhibition/rapamycin treatment showed no alteration in proliferation compared to *HCK* inhibition. Moreover, granulocyte and erythroid differentiation results in *HCK* overexpression since correspond to an adaptor protein that is essential for intermediating signaling downstream of activated cell surface receptors. Our findings also indicate that *HCK* plays a role in myeloid cell abnormalities, suggesting that *HCK* represents a possible therapeutic target in MDS.

0622

Bronquiolite obliterante com pneumonia em organização (BOOP) secundária a decitabina

Coutinho R, Apa AG, Schramm M, Cunha JR, Albuquerque AK, Velasco E, Gonzaga YB

Instituto Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, RJ

Introdução: Lesões pulmonares induzidas por agentes antineoplásicos são bem conhecidas. Não só agentes quimioterápicos clássicos, como a bleomicina, mas também novas drogas com mecanismos de ação distintos, como o imatinib, podem induzir lesão pulmonar. Diversos padrões de acometimento pulmonar são descritos, como a pneumonite intersticial, a hemorragia alveolar difusa e a BOOP. Os sinais e sintomas são inespecíficos e o diagnóstico diferencial de um novo infiltrado pulmonar pode ser bastante amplo em pacientes imunossuprimidos com câncer. Neste contexto, determinar a etiologia pode ser impossível sem a realização de biópsia. A decitabina é um agente hipometilante liberado recentemente para o tratamento das síndromes mielodisplásicas (SMD) de alto risco. Até onde sabemos, só existe 1 relato prévio de BOOP relacionado a essa medicação. **Caso:** Feminina, 75 anos, neoplasia de mama 14 anos antes, tratada com cirurgia, quimio e radioterapia. Apresentou pancitopenia de início recente. Diagnóstico final de SMD alto risco. Iniciou tratamento com decitabina 20mg/m² por 5 dias. Apresentou neutropenia febril (NF) sem foco aparente, sendo iniciado Cefepime. Evoluiu com febre persistente, culturas negativas, tosse seca e taquipnéia. Tomografia de tórax evidenciou múltiplas áreas de infiltrado em vidro fosco bilaterais, consolidação associada a bronquioloectasias e distorção do parênquima no lobo superior esquerdo. As dosagens de galactomanana eram negativas e optou-se pela realização de biópsia pulmonar. Houve piora clínica e necessidade de ventilação mecânica no 1º dia de pós-operatório. Modificado esquema antibiótico para Imipenem, Vancomicina e Caspofungina e iniciada metilprednisolona 2mg/kg/dia. Houve melhora clínica, radiológica e gasométrica inicial mas, dias depois, a paciente evoluiu com nova febre, seguido de choque refratário e óbito. A biópsia pulmonar mostrou fibrose intersticial associada a edema, congestão vascular e infiltrado misto, além de áreas de BOOP. A pesquisa de microorganismos foi negativa. **Discussão:** A SMD é uma complicação frequente após o tratamento de outras neoplasias. Pacientes com SMD têm como opção terapêutica o uso de hipometilantes como a decitabina. Seu principal efeito adverso é a mielossupressão. Náuseas, vômitos e rash cutâneo podem ocorrer. A toxicidade pulmonar

pelo uso da decitabina, embora já relatada, é incomum. Em geral, são descritos sintomas respiratórios e alterações radiológicas inespecíficas, sem documentação histológica. Um caso de BOOP, com boa evolução após suspensão da medicação e início de corticoterapia foi descrito por Tajeder em 2009 e, até onde sabemos, trata-se do único relatado. Nossa paciente apresentou mielotoxicidade e NF. Evoluiu com sintomas respiratórios e achados tomográficos inespecíficos e a biópsia pulmonar evidenciou BOOP. Após uma melhora inicial com o início do corticóide, a paciente apresentou quadro de sepse e evoluiu para óbito. **Conclusão:** O tratamento do câncer vem se tornando cada vez mais complexo e inclui o uso de novas drogas com mecanismos de ação distintos dos quimioterápicos convencionais. É importante conhecer o perfil de toxicidade dessas medicações, em especial a toxicidade pulmonar, que pode se confundir com diversas condições clínicas, especialmente infecciosas. Nós relatamos o 2º caso de toxicidade pulmonar tipo BOOP após o uso da decitabina e o 1º com evolução fatal.

0623

Increased CD8+ cell frequency in the early mds stage and its negative correlation with IL10 expression

Lopes MR¹, Pereira JKN¹, Traina F¹, Campos PM¹, Machado-Neto JA¹, Lorand-Metze IG¹, Costa FF¹, Saad ST¹, Favaro P^{1,2}

¹ Centro de Hematologia e Hemoterapia, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

² Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP

MDS is characterized by increased programmed cell death of bone marrow cells, which contributes to ineffective hematopoiesis and peripheral cytopenias. Apoptosis is prominent in the earliest stages of the disease. MDS pathogenesis represents a complex, and multistep process, including deregulation of immune homeostasis. This deregulation is believed to promote progression of early MDS towards the advanced stage, but how the immune response contributes to the progression of the disease is unknown, and new insights related to the immune system are important to better understand the MDS pathogenesis. To investigate the absolute lymphocyte count, the frequency of peripheral CD4⁺ and CD8⁺ and their ratio in healthy controls and MDS patients, after age-adjusted analysis. These data were correlated with *FOXP3*, and also with anti-inflammatory cytokines *IL-10*, *TGF β 1*, and *CTLA-4* expressions. A total of forty-nine patients with a diagnosis of MDS were included in the study; twenty-nine samples from healthy donors were used as controls (median age=39; range 28 to 60). Patients' characteristics: FAB: RA=32, RARS=08, RAEB=09, WHO: RCUD=09, RCMD=23, RARS=08, RAEB-1=07, RAEB-2=02; median age=67 years (range, 27 to 89). All healthy controls and patients provided informed written consent and the study was approved by the ethics committee. *FOXP3*, *IL10*, *TGF β 1* and *CTLA-4* expression levels from CD3⁺ cells were determined by q-PCR. CD3⁺CD4⁺ and CD3⁺CD8⁺ cell frequencies were determined by flow-cytometry. The statistical method used was linear regression. The 2-tailed Spearman's correlation coefficient was used for comparisons within groups. We observed a significant decrease in lymphocyte count in MDS group when compared to control, after adjusting for age ($P=0.002$). The age-adjusted percentages of CD3⁺ cells were significantly higher in MDS group ($P=0.004$) and analysis of CD3⁺CD4⁺ and CD3⁺CD8⁺ cells individually, according to FAB and WHO, showed a significant increase in CD3⁺CD4⁺ frequency in high-risk MDS ($P=0.02$), and in CD3⁺CD8⁺ frequency in low-risk MDS when both were compared with the control group ($P=0.04$). CD4:CD8 ratio was significant higher in high-risk when compared to low-risk ($P=0.03$). *FOXP3* expression correlated positively with *IL10*, *TGF β 1* and *CTLA-4* expressions. The *FOXP3* expression levels, in peripheral blood CD3⁺ cells, were significantly lower in the low-risk group compared to controls and reached similar levels to controls during disease progression. The same pattern was observed for

IL10 expression. Interestingly, *IL10* transcripts correlated negatively with the percentage of CD3⁺CD8⁺ cells ($P = 0.02$; $r = -0.35$). There were no significant differences in *TGF β 1* and *CTLA-4* expressions. The decrease in lymphocyte count in the patients supports the hypothesis of immune abnormalities in MDS. The CD3⁺CD8⁺ frequency suggests the contribution of these cells in the apoptosis of hematopoietic progenitors during the early stages of the disease. A profile of autoimmune disease is described during the early stage MDS, such as the low number of Tregs. Although Tregs play a role in the immune system deregulation in MDS patients via interleukin secretion, this has not yet been proven. We described for the first time an inverse pattern of CD8⁺ cell frequency and *IL10* expression in MDS, suggesting the role of Treg in the immune system deregulation via *IL10* secretion.

0624

BNIP3 expression and methylation in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia: a possible decitabine target through reduction of proliferation

Lazarini M, Machado-Neto JA, Duarte AS, Pericole F, Barcellos K, Traina F, Saad ST

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

In myelodysplastic syndromes (MDS), changes in the balance between pro- and anti-apoptotic proteins are associated with disease progression and evolution to acute myeloid leukemia (AML). *BNIP3* is a member of the Bcl-2 superfamily proteins associated to cell death and survival, which expression is induced under hypoxia and may contribute to apoptosis and/or autophagy. *BNIP3* expression is reduced due to epigenetic modifications in primary leukemia cells. However, there are as yet no studies in MDS. We aimed to characterize *BNIP3* mRNA expression levels and DNA methylation status of the promoter in hematopoietic cell lines and bone marrow cells from MDS and AML patients. We also investigated the effects of *BNIP3* silencing upon decitabine (DAC) treatment regarding to proliferation, colony formation, apoptosis and autophagy. Bone marrow aspirates were obtained from fifty-five patients with MDS and forty-four patients with AML at diagnosis. Twenty-one samples from normal donors were used as control. MDS patients were grouped into low-risk and high-risk according to FAB (RA/RARS=30; RAEB/RAEB1=25), WHO (RAUD/RCMD/del5/=29; RAEB1/RAEB2=17) and IPSS (low/INT-1=38; INT2/high=16). Gene expression was evaluated by qPCR and DNA methylation was assessed with Combined Bisulfite Restriction Analysis. *BNIP3* depletion was performed in U937 cells with shRNA-expressing lentiviral vector. Cell growth was measured with MTT assay and colony formation was carried out in semisolid methylcellulose. Apoptosis and autophagy were measured by flow cytometry. All assays were performed with lentiviral transduced cells treated or not with 5 μ M DAC for 72 hours. We observed a significant decrease in *BNIP3* mRNA expression in total bone marrow from AML (n=28) and MDS (n=34) compared to normal cells (n=16) (AML= 0.52 [5.27-0.00]; MDS=0.52 [5.25-0.02] versus healthy donors= 1.09 [6.04-0.18]; $P < 0.05$). *BNIP3* did not differ between low-risk and high-risk MDS patients according to FAB and WHO classification, IPSS and number of cytopenias. Methylation of *BNIP3* promoter was detected in four (two low-risk and two high-risk) of 21 (19%) MDS and four of the 15 (26%) AML patients, however, it was not observed in the six normal donors evaluated. *BNIP3* expression was detected in K562, HL60, U937 and P39 cells; its expression was lower in K562 and U937 cells. *BNIP3* promoter was methylated in U937 cells and DAC treatment resulted in upregulation of *BNIP3* expression (3.7-fold) and concomitant reduction of proliferation (83%) and total inhibition of colony formation. Apoptosis (63%) and autophagy (9%) were induced by DAC. Interestingly, *BNIP3* silenced cells showed greater resistance to DAC effects on

proliferation (reduction of 67% compared to 83% in control cells), but not on apoptosis or autophagy. In conclusion, our results suggest that DNA methylation of promoter is not the single reason for decreased *BNIP3* expression in MDS patients. Other mechanisms, such as histone deacetylation, may be involved in aberrant *BNIP3* expression in MDS. DAC treatment increased *BNIP3* expression, probably decreasing its methylation in U937 cells. Moreover, *BNIP3* silencing increased cell viability upon treatment. This is the first study of *BNIP3* in MDS and our results suggest that it may be a molecular target for DAC through reduction of proliferation.

0625

Verificação do perfil de expressão de NR4A em células CD34+ de medula óssea de pacientes com síndrome mielodisplásica

Corrocher FA, Palodetto B, Roversi FM, Baratti MO, Campos PM, Traina F, Saad ST

Centro de Hematologia e Hemoterapia, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

A exata causa das Síndromes Mielodisplásicas (SMDs) é desconhecida e provavelmente multifatorial. Resultados prévios de microarranjo do nosso grupo identificaram os genes *NR4A1*, *NR4A2* e *NR4A3* hiperexpressos em células CD34⁺ de medula óssea de pacientes com SMD. Estes genes pertencem à família de receptores nucleares órfãos e não possuem ligantes naturais conhecidos. As proteínas *NR4A1* e *NR4A3* são potentes supressores tumorais e estão silenciadas em leucemias agudas. Além disso, modelos animais com redução da dosagem destes dois genes, desenvolveram síndrome mielodisplásica/mieloproliferativa. Porém, Resultados controversos têm sido descritos em células endoteliais, pois a superexpressão de *NR4A1* pode tanto inibir como induzir proliferação nessas células. Em vista dos Resultados recentes e contraditórios, é objetivo deste estudo verificar a expressão de *NR4A* em células CD34⁺ de medula óssea de pacientes com SMD. Para tal, foi realizado PCR quantitativo, utilizando os genes da β -actina e HPRT como endógenos normalizadores de acordo com a proximidade do CT (cycle threshold) do gene. Os Resultados preliminares em 7 amostras de pacientes com SMD (FAB; ARSA=6 pacientes, AREB=1 paciente) e 3 controles saudáveis mostraram que há aumento da expressão dos genes *NR4A1*, *NR4A2* e *NR4A3* em células CD34⁺ de pacientes com SMD sendo a expressão de *NR4A2* estatisticamente significativa ($p = 0,0167$; *Mann Whitney Test*) quando comparados com o grupo controle. A partir dessas análises, foi possível confirmar que a desregulação de *NR4A* pode contribuir para a patogênese das SMDs. Este resultado inédito e inesperado sugere que esta família de genes está envolvida na fisiopatogenia das SMDs e um número maior de amostras e estudos funcionais estão em andamento no laboratório para elucidar os mecanismos moleculares relacionados à heterogeneidade que ocorre em tais desordens hematológicas.

0626

Importância da ferritina sérica no curso clínico das síndromes mielodisplásicas

Melo MF, Neves MA, Brito A, Araújo CA, Machado CG

Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HE-MOPE, Recife, PE

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMDs) são um grupo heterogêneo de desordens hematopoéticas de natureza clonal que cursa com hematopoese ineficaz, citopenias periféricas e aumento do percentual de blastos. As SMDs são classificadas em diferentes

subtipos, com variável curso clínico, podendo os níveis de ferritina sérica contribuírem para uma evolução adversa. Devido à anemia crônica, os portadores de SMDs desenvolvem dependência transfusional e como consequência, correm risco de sobrecarga de ferro, o que pode levar a uma disfunção hepática, cardíaca e do sistema endócrino. Uma série de estudos tem sugerido a necessidade de iniciar a quelação de ferro precocemente nas SMDs e especula-se que além dos danos cardíacos e hepático, é possível que a acumulação de ferro tenha um papel na imunossupressão aumentando a taxa de infecções e também contribuindo na evolução para LMA. **Objetivos:** analisar a importância da ferritina sérica no curso clínico das SMDs e caracterizar variáveis clínico-laboratoriais significativas. **Métodos:** foram analisados 78 prontuários de pacientes com SMDs, sendo a coleta dos dados realizada de agosto de 2011 a fevereiro de 2012. **Resultados e Discussão:** Houve discreto predomínio do sexo feminino com média de idade de 65 anos; o subtipo mais frequente foi a Anemia Refratária e a citopenia predominante foi a anemia seguindo-se da plaquetopenia; predominaram medulas ósseas hiperplásicas com displasia trilinear; vinte e três pacientes exibiam cariótipo normal, em um total de 31 exames realizados; os Resultados foram compatíveis com outros relatos da literatura nacional, exceto por maior frequência de cariótipos normais refletindo talvez a baixa amostragem; a ferritina sérica foi avaliada em 59% dos casos, sendo elevada em 69% com média de 1.953 ng/mL; vinte e nove (91%) dos pacientes com ferritina alta estavam em regime transfusional, comprovando o papel da transfusão sanguínea no aumento de ferritina; dezenove pacientes apresentavam comorbidades, predominando a hipertensão arterial sistêmica e *d. mellitus*; três evoluíram para LMA. **Conclusão:** Este estudo demonstra que há aumento do ferro de depósito em pacientes com SMDs, notadamente nos politransfundidos, com consequentes efeitos colaterais principalmente para os sistemas cardiovascular e endócrino. Assim, a avaliação da ferritina sérica é essencial ao diagnóstico e no curso evolutivo das SMDs. **Palavras-chave:** Síndromes Mielodisplásicas; Ferritina Sérica; Comorbidades

0627

Avaliação de dois scores fenotípicos e sua importância no diagnóstico diferencial entre SMD e citopenias não clonais

Reis-Alves SC¹, Harada G², Rocha FF¹, Pereira-Cunha FG¹, Traina F¹, Saad ST², Lorand-Metze IG²

¹ Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

² Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: Atualmente, a imunofenotipagem tem sido utilizada como co-critério para a confirmação do diagnóstico de SMD, especialmente nos casos com cariótipo normal. Em 2003, Wells e colaboradores descreveram um score com dados da citometria de fluxo (FCSS) para SMD e em 2011 demonstraram a sua utilidade no diagnóstico diferencial e seu valor prognóstico. Entretanto, este sistema não pontua as alterações de células CD34+. Nosso grupo descreveu recentemente um score modificado incluindo as alterações destas células para aumentar a sua sensibilidade. **Objetivo:** Validar o FCSS de Wells e avaliar qual dos dois scores discrimina melhor as SMD das citopenias não clonais. **Métodos:** Análises imunofenotípicas foram realizadas em medula óssea (MO) de pacientes com SMD (diagnóstico por critério OMS), pacientes com citopenias não clonais e doadores de MO. Os dois scores foram aplicados a todos os casos. O score descrito por nosso grupo abrange 9 anormalidades granulocíticas, 8 monocíticas (como no FCSS). Além disso, consideramos 12 alterações nas células CD34+. Combinações de anticorpos usadas: HLA-DR/CD14/CD45/CD33, CD16/CD11b/CD45/CD13, CD13/CD117/CD45/CD34, CD10/CD19/CD45/CD34, CD15/CD11b/CD45/CD34

e CD7/CD56/CD45/CD34. **Resultados:** Foram analisadas 21 citopenias não clonais: 62 anos (14-86), e 36 casos de SMD: 69 anos (27-84). De acordo com o critério OMS, 4 pacientes foram AR, 16 CRDM, 6 CRDM-SA, 4 AREB-I e 6 AREB-II. De acordo com o IPSS, 11 casos foram de baixo risco, 13 foram intermediário-I, 6 intermediário-II e 1 alto risco. Cinco casos não foram classificados. Houve diferença significativa entre SMD e citopenias não clonais em relação ao IMF SSC (hipogranularidade), alterações dos padrões CD13/CD16 e HLA-DR/CD33 na série granulocítica. Na série monocítica foram diferentes a alteração do padrão HLA-DR/CD33 e expressões anômalas de CD7 e CD34. Nos progenitores, os casos de SMD tiveram um número significativamente maior de células CD34+ totais ($p=0.01$), assim como das células com fenótipo CD34+CD13+CD117+ ($p=0.001$) e das expressões anômalas de CD56 ($p=0.01$), CD7 ($p=0.05$), CD15 ($p=0.02$) e CD11b ($p=0.02$). A mediana do número total de alterações foi significativamente maior nas SMD (9 vs 4, respectivamente). A pontuação mediana do FCSS foi significativamente maior nas SMD (4 vs 1, respectivamente) assim como a do nosso score (7 vs 3, respectivamente). Segundo o FCSS, os casos reacionais foram normais (0-1 ponto) em 13 (62%) casos, moderada alteração (2-3 pontos) em 5 (24%) e severa (4 ou mais pontos) em 3 (14%). Nas SMD: nenhum normal, moderada alteração em 12 (33%) e severa em 24 (67%). De acordo com o nosso score os casos reacionais foram normais (0-2 pontos) em 5 (24%); moderada alteração (3-5 pontos) em 16 (76%) e nenhum severo (6 ou mais pontos). Nas SMD: nenhum normal, moderada alteração em 4 (11%) e severa em 33 (90%). **Conclusões:** ambos os sistemas de pontuação auxiliam no diagnóstico diferencial entre SMD e citopenias não clonais. Por incluir as anormalidades nas células CD34 que são mais específicas das SMDs como o aumento das células CD34+ e as expressões anômalas, o nosso score discriminou melhor os grupos, pois aumentou a pontuação e incluiu a maioria das SMD na classificação severa que foi 100% específica com sensibilidade de 90%. Apoio: FAPESP e CNPq, MDS Foundation.

0628

Avaliação do uso de azacitidina em pacientes com síndrome mielodisplásica

Rassi AB, Yamakawa PE, Abdo AN, Silva MC, Buccheri V, Lima WM, Velloso ED

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: A azacitidina é um agente hipometilante recentemente aprovado para tratamento das síndrome mielodisplásica (SMD) e alto risco (IPSS intermediário e alto risco) e LMA com 20-30% de blastos. A literatura mostra ganho na sobrevida, com poucos efeitos colaterais, sendo o esquema terapêutico recomendado dose de 75mg/m²/dia, infusão subcutânea por 7 dias, com ciclos repetidos a cada 28 dias até perda da resposta. **Objetivo:** Relatar a resposta e toxicidade do uso de azacitidina nos pacientes portadores de SMD acompanhados no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. **Métodos:** A partir de janeiro de 2011, 9 pacientes com diagnóstico de síndrome mielodisplásica *de novo* foram tratados com azacitidina. A dose total por ciclo foi a padrão (525mg/m²), mas ajustada para aplicação em 7 dias (100 ou 200 mg/dia), para não haver desperdício da medicação. A infusão foi feita por via subcutânea, exceto na vigência de plaquetopenia importante, quando se utilizou a via intravenosa. Levofloxacina foi utilizada profilaticamente enquanto havia risco ou neutropenia detectada. Os critérios de resposta foram os definidos pelo IWG (Cheson, 2005). **Resultados:** Dos 9 pacientes, sete eram do sexo masculino, com idade média ao diagnóstico de 52 (17 a 76) anos; 4 com AREB-1, 4 AREB-2, 1 CRDM. Sete de nove pacientes (78%) possuíam IPSS intermediário-2 ou alto, todos com WPSS de alto ou

muito alto risco e todos com necessidade transfusional. O cariótipo foi anormal em 55,5% dos pacientes com alterações que incluíam monossomia do 7, deleção do 5q (em associação com outras anormalidades), deleção do 11q, trissomia do 9, sendo 2 deles complexos. O tempo médio do diagnóstico até início de hipometilante foi de 8,1 meses. Tratamentos prévios utilizados incluíam eritropoetina associada ou não a GCSF, ciclosporina, danazol, talidomida. O total de ciclos aplicados foi de 56, com média de 6,2 ciclos por pacientes (2 a 14) e houve resposta documentada em 44% dos pacientes, geralmente entre o segundo e o terceiro ciclos. Os efeitos colaterais mais frequentes foram neutropenia febril (em 12/56 -21% dos ciclos), geralmente tratadas em regime de hospital dia, um paciente apresentou trombose venosa associada a cateter, um paciente apresentou plaquetopenia. Até a presente data 3 (33%) dos pacientes evoluíram para LMA, tendo estes evoluído a óbito (um pós quimioterapia e 1 pós TCTH). Dois pacientes têm doador relacionado e aguardam TCTH. **Conclusão:** O ajuste posológico utilizado reduziu a perda de até 30% da medicação, sem aparente redução na eficácia. Apesar da pequena amostra, nossos dados são semelhantes aos da literatura, mostrando boa tolerabilidade à medicação e boa eficácia em SMD *de novo*.

0629

Anormalidades citogenéticas em smd de novo: incidência e classificação de acordo com grupos de risco citogenéticos definidos pelo IPSS e IPSS-R

Silva MC, Yamakawa PE, Buccheri V, Lima WM, Kumeda CA, Ferreira PB, Leal AM, Mascarenhas AR, Tanigawa RS, Velloso ED

Universidade de São Paulo – USP, SP

Introdução: A citogenética constitui um importante fator prognóstico em SMD, fazendo parte dos principais escores de prognóstico. O IPSS publicado inicialmente em 1997 definia apenas 3 grupos citogenéticos (bom, intermediário e ruim). Em 2012 foi publicado por Schanz e cols uma proposta de sistema de escore citogenético para SMD de novo, que compreende 5 grupos de risco. Este sistema foi a base para as mudanças aceitas no sistema de IPSS-revisado (IPSS-R). **Objetivos:** Verificar a incidência de anormalidades citogenéticas em pacientes com SMD *de novo*, e classificar as anormalidades de acordo com IPSS e IPSS-R. **Métodos:** Foram avaliados os casos de SMD *de novo* do Serviço de Hematologia do HC-FMUSP, com diagnóstico realizado de novembro de 1987 a abril de 2012. Os critérios de inclusão na reclassificação foram: citogenética disponível, idade > 15 anos, contagem de blastos na Medula óssea < 30% e leucócitos < 12.000/mm³. **Resultados:** Foram avaliados 267 casos, com mediana de idade de 68 (15-99) anos; destes 151 eram do sexo masculino. De acordo com a classificação FAB os casos se distribuíram em AR (91), ARSA (49), AREB (62), AREBT (37), LMMC (26) e 2 não classificáveis (SMD hiperfibrótica). Pela OMS 2008: Síndrome do 5q- (7), CRDU (29), ARSA (23), ARSA com trombocitose (5), CRDM (67), AREB-1 (36), AREB-2(40), LMA (14), LMMC-1 (24), LMMC-2 (4), inclasificável (5) e não avaliadas (13). O cariótipo foi normal em 172 (64,4%) casos. Anormalidade isolada foi observada em 55 (20,6%) casos; duas anormalidades em 25 (10,3), cariótipo complexo com até 3 anormalidades em 4 (1,4%) e complexo com mais de 3 anormalidades em 11(4,1%) casos. As anormalidades recorrentes mais frequentes identificadas foram: der(1;7) (1,1%), del(5q) (9%), -7/7q- (4,1%), +8 (4,9%), del(11q) (1,1%), del(20q) (2,6%), +21 (1,4%) e -Y (0,8%). A frequência de anormalidades duplas incluindo del(5q) foi de 2,5% (7 casos), -7/7q- 1,4% (4 casos) e qualquer outra 5,2%(14 casos). De acordo com os grupos de risco citogenéticos do IPSS 1997, 195 (73%) pertenciam ao grupo de bom prognóstico, 39 (14,6%) ao grupo intermediário e 33 (12,4%) ao de mau prognóstico. De acordo com o grupo de risco definido pelo IPSS-R, a incidência dos grupos de risco foi: muito bom em 4

(1,5%) casos, bom prognóstico em 200 (75%) casos, intermediário em 36 (13,5%) casos, ruim em 15 (5,6%) casos e muito ruim em 12 (4,5%) casos. **Conclusão:** A incidência das anormalidades citogenéticas observadas neste estudo é semelhante à observada no estudo de Schanz e cols. Como esperado, houve migração de muitos pacientes para outros grupos de risco do IPSS-R. Por outro lado, algumas anormalidades recorrentes como der(1;7) e trissomia do 21 ainda não tem valor prognóstico claro na literatura devido a baixa incidência destas alterações e merecem estudos adicionais.

0630

Expressão de TET2 e DNMT3A em pacientes com síndromes mielodisplásicas e leucemia mieloide aguda

Scopim-Ribeiro R, Machado-Neto JA, Campos PM, Duarte AS, Lorand-Metze IG, Costa FF, Saad ST, Traina F

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Introdução: Novas tecnologias de sequenciamento permitiram a identificação de mutação em *DNMT3A* e *TET2* em síndrome mielodisplásica (SMD) e leucemia mieloide aguda (LMA), as quais conferem pior prognóstico. *DNMT3A* participa da regulação epigenética através de metilação de ilhas CpG e formação de 5-metilcitosina (5-mc). Depleção de *Dnmt3A* resulta em alteração no padrão de metilação, aumento da auto-renovação e redução da diferenciação mieloide. *TET2* participa da regulação epigenética através da hidroxilação de 5-mc e formação de 5-hidroximetilcitosina (5-hmc). Mutação em *TET2* confere perda de função da proteína, redução nos níveis de 5-hmc, aumento da diferenciação monocítica e granulocítica e redução da diferenciação eritroide e linfóide. A presença de mutação em *TET2* resultou em hipermetilação em LMA. Hipermetilação é um fenômeno observado em SMD e LMA e pode ser revertida através do uso de drogas hipometilantes. As evidências de mutações em genes envolvidos na regulação epigenética sugerem que estes genes possam participar na fisiopatologia da doença, seja através de mutações ou alteração na expressão. **Objetivos:** Estudar e comparar a expressão de *DNMT3A* e *TET2* em células de medula óssea de controles normais (CTRL), pacientes com SMD e LMA, e sua expressão durante a diferenciação eritroide de células CD34⁺ de CTRL e SMD. **Métodos:** Foram incluídos no estudo CTRL (n=21), pacientes com SMD (n=43) e LMA (n=42) ao diagnóstico. Os pacientes com SMD foram estratificados em baixo e alto risco de acordo com a classificação WHO (CRDU/CRDM/ARSA=31 e AREB1/AREB2=12). Expressão gênica de *DNMT3A* e *TET2* foi avaliada por PCR quantitativo. Células CD34⁺ de CTRL (n=9) e pacientes com SMD baixo risco (n=7) foram submetidas à diferenciação eritroide, a qual foi confirmada através do estudo de expressão de GPA e CD71 (dias 6 e 12) por imunofenotipagem. A expressão de *DNMT3A* e *TET2* foi avaliada nos dias 6, 8 e 12 da diferenciação. Análise estatística apropriada foi utilizada. Resultados da expressão gênica relativa são apresentados como mediana, mínimo-máximo. **Resultados:** Redução significativa da expressão de *TET2* foi observada em LMA (0,62; 0,01-32,69) comparado à SMD (1,46; 0,17-21,30) e CTRL (2,72; 0,43-31,49); LMA vs. CTRL *P* < 0,0001; SMD vs. CTRL *P* = 0,01; LMA vs. SMD *P* = 0,0007. A redução da expressão de *TET2* foi também significativa em SMD alto risco (0,73; 0,17-7,25) se comparados aos pacientes com SMD baixo risco (1,58; 0,48-21,30) *P* = 0,02 e foi similar entre LMA vs. SMD alto risco, e SMD baixo risco vs. CTRL. A expressão de *DNMT3A* foi similar entre CTRL (0,74; 0,22-1,53), SMD (0,78; 0,26-3,46) e LMA (0,95; 0,15-6,46). A diferenciação eritroide foi efetiva em células de doadores normais e pacientes com SMD. A expressão de *TET2* foi significativamente aumentada no dia 12 de diferenciação eritroide (*P* < 0,05), mas a expressão de *DNMT3A* não foi modulada durante essa diferenciação. **Conclusão:** Estes dados sugerem que a diminuição da expressão de *TET2* pode es-

tar participando da leucemogênese, e corrobora a participação do *TET2* na diferenciação eritroide. *DNMT3A* não foi diferencialmente expresso em SMD e LMA, indicando que a presença de mutação neste gene pode ser mecanismo predominante de alteração na função proteica. Futuros estudos são necessários para elucidar se a redução da expressão de *TET2* resulta em hipermetilação e influencia o prognóstico da doença.

0631

Dois casos de mielodisplasia com neoplasia gástrica sincrônica: quando os sintomas sugerem algo a mais

Campos PM¹, Traina F¹, Vassallo J², Metzke IL¹, Saad ST¹

¹ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

² Departamento de Anatomia Patológica, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

As síndromes mielodisplásicas (SMD) constituem um grupo heterogêneo de doenças clonais que apresentam displasia de uma ou mais linhagens mielóides e risco de transformação para leucemia mielóide aguda. Embora apresentem uma definição clara na teoria, seus elementos diagnósticos podem ser sutis, de difícil reconhecimento e comumente mimetizados por outras condições sistêmicas, como infecções, doenças autoimunes, deficiências nutricionais, toxicidades e neoplasias não hematológicas. Por outro lado, as SMD podem coexistir com essas condições, podendo mascará-las caso não haja investigação adicional. Para melhor ilustração, nós descrevemos aqui dois casos de SMD com neoplasia gástrica sincrônica. A primeira paciente é uma gestante de 36 anos, com queixas de fadiga e perda de peso acentuada. Apresentava anemia isolada (Hb=7,5 mg/dl), com provas carenciais normais, mielograma e BMO sem displasias e cariótipo normal. Pela síndrome consumptiva, foi realizada EDA, que evidenciou adenocarcinoma gástrico, atribuído inicialmente como causa de uma possível anemia de doença crônica. Logo após, houve piora do HMG (Hb=6.1mg/dl, plaquetas=78.000/μl, neutrófilos= 3300/μl) e necessidade de transfusão regular. Um novo mielograma demonstrou 11% blastos e imunofenotipagem evidenciou presença de 3% blastos CD34⁺ e CD117⁺ e 8% de blastos com deficiência de CD34 e expressão variável de CD117, sendo feito o diagnóstico de SMD sincrônica (WHO 2008 AREB-2 e IPSS INT-2). O segundo caso é de um senhor de 67 anos, que referia cansaço e perda de 14 kg em 4 meses. Ao diagnóstico, apresentava Hb=6,4mg/dl, VCM=112fL, plaquetas=28.000/μl, neutrófilos=703/μl e dosagem de B12 de 190 pg/ml. Mielograma evidenciou diseritropoiese, hipogranulação e 9% blastos, cariótipo normal. Realizada reposição de B12, sem melhora do HMG. O diagnóstico de SMD, WHO 2008 AREB-1 e IPSS INT-1, foi feito e o paciente incluído no programa de transfusão regular. Para investigação da perda de peso associada, foi realizado rastreamento para neoplasias sincrônicas: TCs de tórax, abdômen e pelve foram normais, porém EDA evidenciou adenocarcinoma gástrico associado. Até o momento, não há estudos descrevendo a incidência exata da coexistência de neoplasias não hematológicas com SMD, mas essa associação parece ser incomum e há poucos relatos de casos na literatura. Entretanto, a presença de sintomas não frequentemente associados a SMD, como perda de peso acentuada e dor localizada, devem levantar a suspeita de neoplasias sincrônicas e desencadear investigação adicional. Da mesma forma, é comum na prática clínica que citopenias em pacientes com neoplasias não hematológicas sejam atribuídas a condições “reacionais”, como anemia de doença crônica e púrpuras trombocitopênicas imunes; é importante destacar a possibilidade de SMD coexistente, e os estudos da medula óssea devem sempre ser considerados. No que se refere à coexistência de diferentes neoplasias, algumas teorias são propostas. Um evento inicial que seleciona um clone de células progenitoras,

somado a anormalidades na imunovigilância, poderiam aumentar a propensão ao câncer. Alternativamente, instabilidades cromossômicas poderiam ser responsáveis pelo desenvolvimento de neoplasias. Por fim, uma diminuição na função de genes supressores de tumor poderia ser um fator importante contribuindo para a proliferação de clones neoplásicos.

0632

Análise clínico-laboratorial e classificação de pacientes com síndrome mielodisplásica atendidos no serviço de hematologia da faculdade de ciências médicas e da saúde da PUC-SP

Vecina A, Lucena RV, Pinheirojr W, Novo N, Lisboa F, Ferrari G, D'ávila V, Assis J, Cliquet M

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMD) compreendem um grupo heterogêneo de doenças mielóides clonais que se caracterizam por hematopoese displásica, com grau variável de falência medular e de proliferação de células imaturas. **Métodos:** Foi realizada uma análise retrospectiva de 20 pacientes atendidos consecutivamente no Serviço de Hematologia da FCMS-PUCSP com o diagnóstico de SMD entre março de 2007 e fevereiro de 2012, sendo preenchida uma ficha com os principais dados clínico-laboratoriais e classificação morfológica dos pacientes. Para descrição da amostra esses dados foram distribuídos em tabelas e gráficos. **Resultados:** A mediana de idade dos pacientes foi de 68 anos (variando de 30 a 85 anos), sendo 13 (65%) do sexo masculino. Em relação ao hemograma, 40% apresentavam unicitopenia (anemia em 50%), 25% bicitopenia (40% anemia e neutropenia, 40% anemia e plaquetopenia e 20% neutropenia e plaquetopenia) e 35% pancitopenia. A mediana de Hb foi de 7,4g/dl para homens (7,1g/dl entre os anêmicos) e 9,1g/dl para mulheres (8,2g/dl entre as anêmicas); a mediana de neutrófilos foi de 950/mm³ (600/mm³ entre aqueles com neutropenia) e a de plaquetas foi de 70.000/mm³ (27.000/mm³ entre aqueles com plaquetopenia). Em relação ao mielograma 70% apresentavam MO hiper celular, com 85% de displasia granulocítica, 70% de eritrodisplasia e 35% de dismegacariopoese. Quanto a classificação FAB os pacientes foram divididos em: 55% AR, 35% AREB e 10% ARSA. Quando classificados de acordo com a OMS-2008 obtivemos os seguintes grupos: CRDU-25%, CRDM-20%, AREB-1-10%, AREB2-25%, ARSA-10% e SMD associada a del (5q)-10%. A imunofenotipagem foi realizada em 65% da população e o cariótipo em 50% (passível de resultado em apenas 30%). **Conclusões:** A população estudada, apesar de pequena, apresenta as características descritas na literatura como faixa etária elevada, predomínio do sexo masculino, anemia como principal citopenia e maioria de tipos com baixo percentual de blastos na MO. A análise citogenética precisa ser incorporada aos serviços de hematologia para uma avaliação mais precisa de prognóstico.

0633

Síndrome mielodisplásica: avaliação de sobrevida de acordo com o número de blastos na medula óssea em pacientes atendidos no serviço de hematologia da faculdade de ciências médicas e da saúde da PUC-SP

Vecina A, Pinheirojr W, Lucena RV, Gianini R, Lisboa F, Ferrari G, Assis J, D'ávila V, Cliquet M

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUCSP, São Paulo, SP

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMD) compreendem

um grupo heterogêneo de doenças mielóides clonais que se caracterizam por hematopoese displásica, com grau variável de falência medular e de proliferação de células imaturas. O prognóstico dos pacientes se baseia principalmente no número de citopenias e de blastos na medula óssea (MO) e no estudo citogenético da MO. **Métodos:** Foi realizada uma análise retrospectiva de 20 pacientes atendidos consecutivamente no Serviço de Hematologia da FCMS-PUCSP com o diagnóstico de SMD no período entre março de 2007 e fevereiro de 2012. Os pacientes foram divididos em dois grupos: Grupo 1 com menos de 5% de blastos e Grupo 2 com $\geq 5\%$ de blastos na MO. Para avaliar a probabilidade de associação entre características clínico-hematológicas e a percentagem de blastos na MO foram utilizados os testes de Fisher e Mann Whitney. As taxas de Sobrevida Global (SG) foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de *log-rank*. **Resultados:** O Grupo 1 (14 pacientes) caracterizou-se por: mediana de idade de 68 anos, relação homem: mulher de 1: 1, mediana de Hb de 7,9g/dl, neutrófilos 1.350/mm³ e plaquetas 168.500/mm³. A metade da população era dependente de transfusão. Entre os pacientes do Grupo 2 (6 pacientes) a mediana de idade foi de 68,5 anos, 100% da população pertencia ao sexo masculino, cuja mediana de Hb foi de 7,7g/dl e de neutrófilos 550/mm³. Todos os pacientes eram plaquetopênicos (mediana de 22.500/mm³) e dependentes de transfusão. Houve associação entre o gênero masculino e a dependência transfusional com a maior percentagem de blastos na MO. Entre os valores hematológicos houve associação apenas entre plaquetopenia e aumento de blastos. A análise de sobrevida foi feita com 18 pacientes (2 abandonaram o seguimento muito cedo). A taxa de SG em 24 meses dos pacientes analisados foi de 65%. As taxas de SG para os pacientes nos Grupos 1 e 2 foram respectivamente 83% e 25% ($p=0,053$). A mediana de sobrevida foi de 150 dias para os pacientes com maior percentagem de blastos na MO e ainda não foi atingida no grupo com $<5\%$ de blastos. **Conclusão:** Nos pacientes com SMD acompanhados neste Serviço houve associação entre maior número de blastos na MO ($\geq 5\%$) e sexo masculino, dependência transfusional e plaquetopenia. A diferença entre as taxas de SG dos grupos com $<5\%$ e $\geq 5\%$ de blastos na MO provavelmente não alcançou significância pelo tamanho pequeno da amostra. O estudo sugere que pela dificuldade na aplicação de índices prognósticos internacionais na prática clínica diária, podemos recorrer à utilização do percentual de blastos na MO como avaliação de prognóstico nos nossos pacientes.

0634

Hedgehog ligands and receptors are deregulated in myelodysplastic syndromes

Xavier JM¹, Dias AI¹, Latuf-Filho P², Traina F¹, Vassallo J², Saad ST¹¹ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP² Laboratório de Investigação em Patologia – LIP, Centro de Investigação em Pediatria - CIPED, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP

Background: The Hedgehog pathway has an important role in self-renew of normal and leukemic stem cells and is upregulated in myeloid leukemias, however there are no studies regarding the Hedgehog pathway in myelodysplastic syndromes (MDS). Hedgehog ligands (Sonic hedgehog [SHh], Indian hedgehog [IHh], and Desert hedgehog [DHH]) are produced by stromal cells and bind to the receptor Patched (PTCH). This binding causes activation of Smoothened (SMO) receptor, resulting in downstream transcription of target genes. Aim: To evaluate Hedgehog pathway components in MDS. **Methods:** Bone marrow (BM) samples were collected from 39 MDS (25 low risk, 14 high risk-WHO 2008) patients and 26 healthy donors (HD). Relative expressions of PTCH and SMO were obtained by Real Time PCR. For immunohistochemistry, BM biopsies were collected from 21 MDS (17 low risk and 4 high risk)

patients and 7 megaloblastic anemia (MA) were used as control. The BM sections were stained with antibodies for DHH, SHh and c-Kit and the percentage of stained nucleated cells was based on an average of 4 high-powered fields. **Results:** Hedgehog receptors PTCH and SMO were overexpressed in MDS BM cells compared to normal BM as follows; PTCH: [median (min-max)] healthy donors= 2.23 (0.42-9.22); low risk= 6.09 (0.41-25.28); high risk= 3.97 (0.42- 21.01); HD vs low risk and HD vs high risk $p= 0.02$; SMO: healthy donors= 2.33 (0.00-16.11); low risk= 14.79 (1.89-41.93); high risk= 34.44 (8.04- 164.28)]; HD vs low risk and HD vs high risk $p<0.001$. Immunohistochemistry assays showed a higher expression of Hedgehog ligands in MDS bone marrow compared to control. For DHH, the number of stained cells in low risk MDS were higher than in MA [MA = 102(84 -183), low risk= 196(69 - 317) high risk 159(131 - 236)]; MA vs low risk $p=0.018$ and MA vs high risk $p= 0.11$. Furthermore, SHh staining was 2 and 2.5 fold higher in low and high risk MDS, respectively, compared to MA [MA= 47(18 - 74), low risk 98.25(53 - 129), high risk 116.25 (93 - 125)] MA vs low risk $p= 0.001$, MA vs high risk $p=0.01$. Similar to SHh, c-Kit staining was higher in MDS cases as follows: MA= 95.3(61 - 114), low risk= 106(57-136), high risk= 95.3(61 - 114). Interestingly, a high correlation was found between c-kit and DHH ($p=0.002$, $r=0.63$) or c-kit and SHh ($p=0.001$, $r=0.7$). **Conclusion:** To our knowledge, this is the first study of the Hedgehog pathway in MDS. We observed overexpression of Hedgehog receptors and ligands. Furthermore, there is a correlation between these ligands and a marker for hematopoietic stem/ progenitors cells. According to these data, we propose that deregulation of Hedgehog in MDS may occur in abnormal progenitors found in MDS bone marrow.

0635

Concomitância de síndromes mielodisplásicas com mieloma múltiplo ou plasmocitose policlonal

Dameto AP, Ikoma MR, Colturato VA, Penitenti M, Marques C, Conte JE, Souza MP, Mattos ER, Cantarelli A, Mauad MA

Fundação Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP

Introdução: Não raramente, a medula óssea (MO) de pacientes portadores de síndromes mielodisplásicas (SMD) apresenta plasmocitose, nem sempre monoclonal, mas são observadas aberrações pela imunofenotipagem (IMF). Por outro lado, alguns pacientes portadores de mieloma múltiplo (MM) apresentam concomitantemente SMD ao diagnóstico. Descrevemos 4 casos que exemplificam essas situações. Foram utilizados: citômetro de fluxo FACSCalibur™ e painéis de anticorpos monoclonais de 4 fluorescências, para avaliação de todas as linhagens hematopoéticas. **Caso 1:** masculino, 63 anos. Apresentava Hb=10,1g/dl com hipoplasia medular e 10% de plasmócitos, sem gamopatia monoclonal nem lesões osteolíticas. Em 4 meses evoluiu com pancitopenia (Hb=8g/dL, Neutrófilos=320/uL, Plaquetas=47000/uL). A MO apresentava hiperplasticidade com 8% de mieloblastos e displasia multilineagem, sem plasmocitose. A IMF mostrou displasia granulocítica e eritróide, com 7,2% de blastos com fenótipo aberrante (CD56+/CD123+), e 0,5% de plasmócitos sem atipias ou monoclonalidade. A biópsia de MO revelava ALIPs. Citogenética: hipodiplóide, 44XY com cariótipo complexo. Classificado como RAEB 1 IPSS int-2. **Caso 2:** masculino, 74 anos, astenia há 30 dias, hipocorado, febril, dispnéico, esplenomegalia, pancitopenia. MO hiperplástica às custas de eritroblastos, displasia multilineagem e 15% de plasmócitos bizarros. A IMF mostrava 13% de plasmócitos aberrantes (CD56++, CD45++ e CD38+ fraco) sem detecção de monoclonalidade, com 49% de eritroblastos megaloblásticos e retardo maturativo (CD105+/CD71++) e assincronismos de expressão entre CD71 e CD36, hipocelularidade granulomonocítica com retardo maturativo. Evoluiu para óbito em 8 dias por sepsis. **Caso 3:** feminino, 54 anos, apresentava anemia (Hb=8,5g/dL) sem

outras citopenias. Diagnosticada SMD tipo AR e além da presença de 7% de plasmócitos, com gamopatia monoclonal sérica e urinária tipo Lambda. A IMF mostrava aumento de eritroblastos, hipogranulações e retardo maturativo de linhagem granulocítica, com plasmócitos aberrantes (CD38++, CD45+, CD19+, CD56++, CD117+, CD33+, cLambda monoclonal). Após 4 meses evoluiu para MM, ISS 1, com 90% de infiltração medular por plasmócitos. **Caso 4:** masculino, 78 anos, apresentava pancitopenia. A MO mostrava 90% de plasmócitos grandes, porém sem gamopatia monoclonal sérica e urinária. Após 3 meses evoluiu febre e perda de peso, linfonodomegalia cervical e hipertrofia de amígdalas, com piora das citopenias (Hto=21%, Hb=7,3g/dL, GB=25000/uL, Plaquetas=23000/uL). A MO mostrava 40% de plasmócitos, com hiperplasia eritróide e hipoplasia granulocítica, sem blastos. A IMF mostrou 22% de plasmócitos policlonais (CD45+, CD38+++, CD19+, cKappa+(59%), cLambda+(41%), CD56negativo); 5% de precursoras mielóides com bloqueio da maturação e fenótipo aberrante (CD33parcial e CD123negativo); hipogranularidade das linhagem granulocítica e displasia monocitária (CD56+). Evoluiu após 6 meses com quadro de Leucemia Mieloblástica com mínima diferenciação granulocítica e componente de 2,45% de dendríticas plasmocitóides. Evoluiu com óbito após tratamento. Pelo observado, as SMD podem se desenvolver na evolução de quadros de plasmocitoses policlonais atípicas, ou serem diagnosticadas juntamente aos quadros de MM. Não há relação fisiopatológica entre as entidades descritas. Porém, a presença de citopenias mais graves do que o esperado em portadores de MM podem ser explicadas pela concomitância à SMD.

0636

Síndrome mielodisplásica (AREB-T) em paciente transplantada renal tratada com azacitidina: relato de caso

Rosa IB¹, Villa PR^{2,3}, Macedo MC^{1,2,3,4}, Geraldo BL², Souza MN², Santos MF^{2,3,4}, Pereira TD^{2,3,4}, Rohr SS^{2,3,4}, Monetta L², Silva RL^{1,2,3,4}

¹ Centro Universitário São Camilo – CUSC, São Paulo, SP

² Bio Sana's, São Paulo, SP

³ Instituto Brasileiro de Controle do Câncer – IBCC, São Paulo, SP

⁴ Hospital São Camilo Pompéia, São Paulo, SP

Introdução: A azatioprina é amplamente utilizada em pacientes portadores de doenças auto-imunes e como agente imunossupressor pós-transplante de órgãos sólidos. Seu uso está associado a toxicidades hematológicas, inclusive o desenvolvimento de síndrome mielodisplásica (SMD) e leucemia mielóide aguda (LMA) secundárias. Seu efeito carcinogênico é raro, porém bem documentado. Estas neoplasias secundárias são resistentes a tratamento antineoplásico convencional e classificadas como de alto risco. A azacitidina, um nucleosídeo da pirimidina da citidina que exerce seus efeitos pela hipometilação do DNA, pode ser uma opção terapêutica para tais casos. **Objetivos:** Descrever o relato de caso de paciente transplantada renal portadora de SMD secundária ao uso de azatioprina, tratada com azacitidina. **Relato de Caso:** 54 anos, sexo feminino, realizou transplante renal por rins policísticos em 2008, utilizou azatioprina 100mg/dia por dois anos como agente imunossupressor. Em 10/2011 procurou atendimento médico apresentando astenia progressiva, febre e diarreia; a avaliação hematológica laboratorial apresentava Hb 10,2 g/dL, leuc. 910/mm³, neutrófilos 280/mm³ e plaq. 35.000/mm³. Miograma confirmou diagnóstico de SMD-AREB- T tipo II com presença de 13,6% blastos, cariótipo não disponível ao diagnóstico. Foi iniciado azacitidina 75mg/m² em 11/2011. Após três ciclos de hipometilante a paciente evoluiu com remissão hematológica completa com miograma mostrando 2% de Blastos e recuperação das citopenias (Hb 14,1 g/dL, leuc. 5.730/mm³, neutrófilos 4.330/mm³ e plaq. 176.000/mm³). A citogenética nesta avaliação foi normal. A paciente evoluiu

com infecção e trombose em fístula arterio-venosa, o que motivou a suspensão temporária da azacitidina por 30 dias. À avaliação pré quarto ciclo, verificou-se aumento do número de blastos (22%) e acitogenética mostrava cariótipo complexo. Reintroduzimos azacitidina na dose de 100mg/m², por mais dois ciclos, entretanto a paciente não apresentou resposta. A paciente evoluiu a óbito por infecção, falência renal e progressão da doença. **Conclusão:** Após transplante renal a SMD é uma entidade relativamente comum e está relacionada com o uso de imunossupressores, dentre eles a azatioprina. Grande parte dos casos evolui com reorganização medular após a suspensão da droga, no entanto, alguns casos, como o descrito, a evolução para SMD clássica necessita de tratamento específico. A Azacitidina foi utilizada neste caso com excelente resultado e em pouco tempo (2 ciclos), no entanto, há necessidade de se manter a droga continuamente, pois a suspensão ou atraso no seu uso promoveu perda de resposta e progressão da doença para LMA, refratária a sua reintrodução.

0637

Azacitidina no tratamento de SMD e LMA - experiência da equipe de hematologia do Instituto Brasileiro do Controle do Câncer - IBCC

Macedo MC^{1,2,3,4}, Rosa IB⁴, Villa PR^{1,2}, Geraldo BL¹, Ito GM^{1,2,3}, Ferraz PD², Rohr SS^{1,2,3}, Santos MF^{1,2,3}, Pereira TD^{1,2,3}, Silva RL^{1,2,3,4}

¹ Bio Sana's, São Paulo, SP

² Instituto Brasileiro de Controle do Câncer – IBCC, São Paulo, SP

³ Hospital São Camilo Pompéia, São Paulo, SP

⁴ Centro Universitário São Camilo – CUSC, São Paulo, SP

Introdução: O prognóstico dos pacientes portadores de SMD de risco intermediário/alto e alto risco é bastante reservado. As infecções, complicações transfusionais, sangramentos e transformação para LMA são as principais causas de óbito nestes pacientes. Os Objetivos principais de tratamento nestes casos são: melhorar a função medular, evitar a transformação para leucemia aguda, reduzir a necessidade transfusional e aumentar a sobrevida. Embora o TCTH alogênico seja ainda a única possibilidade de cura, o uso de agentes hipometilantes, tais como a azacitidina, vem promovendo aumento de sobrevida em 9 meses e retardo na transformação leucêmica em 6 meses, quando comparados às terapias convencionais de suporte. A azacitidina ainda vem sendo utilizada como alternativa de tratamento para pacientes com leucemia mielóide aguda sem condições de tratamento quimioterápico convencional. **Objetivos:** Descrever a experiência no tratamento de 14 pacientes que receberam tratamento com azacitidina no IBCC no período de outubro de 2010 a agosto de 2012. **Métodos:** 14 pacientes, divididos igualmente entre os sexos, com mediana de idade de 64 anos (19 a 87); 6 pacientes portadores de SMD IPSS int-2 e alto risco (grupo A); 2 pacientes com LMMC/SMP (grupo B); 3 pacientes com LMA/SMD (grupo C) e 3 pacientes com LMA (grupo D). O tratamento com azacitidina foi realizado de acordo com as doses preconizadas (1º ciclo 75 mg/m²/dia x 7 dias e após 2º ciclo, 100 mg/m²/d x 7). O número mediano de ciclos administrado foi 11 (2 a 15); com intervalos entre ciclos de 28 a 60 dias. Doze pacientes eram dependentes de transfusão e 3 pacientes (portadores de LMA) haviam recebido tratamento com quimioterapia prévia (2 refratários à QT e 1 paciente com excessiva toxicidade). **Resultados:** Os critérios de respostas foram os descritos pelo "international working group to standardize response criteria for myelodysplastic syndromes". Para fins de análise dos Resultados, consideramos as respostas de acordo os seguintes grupos de pacientes: A- pacientes com SMD IPSS-2/alto risco: 6/6 pacientes com resposta (RC2/RP2/MH2) sendo que a resposta máxima ocorreu após 5º ciclo (3 a 8); B- pacientes com LMMC/SMP: 1/2 com MH e 1/2 sem resposta; C - 3/3 com resposta (RC 2/3 e 1MH); grupo D- 1/3 com resposta parcial e 2 pacientes sem resposta.

Sete pacientes evoluíram para óbito por progressão da doença neste período de análise. **Conclusão:** Todos os pacientes com SMD IPSS int-2/alto risco e pacientes com LMA/SMD obtiveram resposta, sendo que 44% obtiveram resposta completa. A perda da resposta/progressão da doença em boa parte dos pacientes ocorreu após espaçamento maior entre os ciclos do hipometilante, como sugerem dados publicados recentemente favorecendo a manutenção da terapia mensal. Embora a experiência seja pequena, os pacientes com LMA com reduzido número de blastos parecem possuir uma boa resposta ao tratamento com azacitidina.

0638

Síndrome mielodisplásica: revisão do índice de comorbidades

Oliveira MM, Bittencourt RI, Furlanetto MA, Amaral SN, Breunig RC, Daudt LE

Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS

A Síndrome Mielodisplásica - SMD – é definida como uma entidade heterogênea de doença clonal das células-tronco hematopoiéticas, caracterizada por apoptose intramedular aumentada, hiperplasticidade medular ineficaz e citopenias periféricas. Atualmente, vários aspectos são considerados como fatores prognósticos: o IPSS, WPSS e mais atualmente a associação de comorbidades, avaliada pela análise do Índice de Comorbidades – IC. Este é um trabalho prospectivo, onde avaliamos a existência de comorbidades nos pacientes em consulta no ambulatório de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre neste primeiro semestre/2012. Classificamos os pacientes de acordo com o índice de comorbidades e seu risco. Foram acompanhados 35 pacientes com diagnóstico confirmado de SMD. Treze homens e 22 mulheres, com idades variando de 22 a 90 anos, perfazendo mediana de 65 anos. Pela classificação WHO 2008, 12 pacientes (34,2%) são portadores de citopenia refratária com displasia unilinhagem; 08 (22,8%), citopenia refratária com displasia multilinhagem; 06 (17,1%): anemia refratária com excesso de blastos tipo 1 e 03 (8,5%), como tipo 2; 04 (11,4%), anemia refratária com sideroblastos em anel e 02 pacientes (5,71%) portadores da deleção isolada 5q. Pelo IPSS-R, 18 pacientes (51,4%) são risco 2; 20%, risco 3; 14,2%, risco 4; e 11,4%, risco 1. No WPSS de baixo ou muito baixo risco encontramos 54,2% e 22,8% são de risco intermediário e a mesma porcentagem como alto e muito alto risco. Avaliando o índice de comorbidades encontramos apenas 02 considerados de alto risco e 12 de risco intermediário. O restante, de baixo risco. A principal comorbidade foi associada ao sistema cardiovascular. Apenas 01 paciente apresenta tumor sólido - câncer de próstata, e 01, patologia pulmonar severa. Cinco pacientes evoluíram para Leucemia Mielóide Aguda, e 01 foi a óbito durante o estudo, em decorrência de pneumonia bacteriana. Possivelmente, pelo pequeno número de pacientes avaliados neste estudo, não foi possível estabelecer uma relação correta entre os índices prognósticos e o desfecho clínico nesta amostra.