



Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia Brazilian Journal of Hematology and Hemotherapy

www.rbhh.org



Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular – HEMO 2014

Florianópolis, 6-9 November 2014

HEMATOLOGIA

DOENÇAS DA SÉRIE VERMELHA: ANEMIAS CARENCIAIS E HEMOCROMATOSE

01. UM NOVO MÉTODO PARA DETECTAR AS MUTAÇÕES H63D E S65C DO GENE HFE DA HEMOCROMATOSE POR MEIO DO PCR 5'NUCLEASE UTILIZANDO UMA SIMPLES SONDA DE HIDRÓLISE PARA AMBOS OS SÍTIOS

Malta FSV^{a,b}, Reis ZN^a, Cabral ACV^a

^a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Hermes Pardini Medicina Diagnóstica e Preventiva, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: O ferro é um importante mineral para a homeostase celular e participa principalmente nos processos de transporte de oxigênio e na síntese de DNA. No homem, pode ser encontrado no grupo heme da hemoglobina, nos eritroblastos, na mioglobina e no citocromo. O mecanismo regulatório do ferro é responsável por manter o equilíbrio dos níveis desse metal no organismo, e diversos hormônios, células e proteínas transportadoras estão envolvidos em sua absorção, distribuição e eliminação e são responsáveis por elas. Esse processo é essencial, pois tanto sua deficiência quanto seu excesso têm manifestações clinicamente relevantes, como a anemia e a hemocromatose, respectivamente. O gene HFE está localizado no cromossomo 6 e tem 7 exons, que compreendem uma proteína de 12Kb que é expressa em todos os tecidos, exceto no cérebro, e está relacionada com a regulação da absorção intestinal do ferro. Defeitos nesse gene, como as mutações C282Y, H63D e S65C, estão relacionados com o acúmulo de ferro, e 85% a 90% dos pacientes com causas hereditárias de acúmulo de ferro apresentam a mutação C282Y no gene HFE em homozigose, embora existam alguns heterozigotos compostos, aqueles que apresentam um alelo mutado C282Y e outro alelo mutado H63D ou S65C. A hemocromatose hereditária é considerada a desordem genética mais comum em europeus. Está distribuída em todo o mundo. Nas populações mais afetadas, a prevalência pode chegar a 1:220-250 indivíduos.

Objetivo: Desenvolver um ensaio laboratorial para detecção de ambas as mutações H63D e S65C em uma mesma sonda de PCR em tempo real. **Material e métodos:** O estudo envolveu a padronização de um ensaio de PCR 5'Nuclease em tempo real para detecção de mutações próximas em uma única sonda de DNA. As propriedades de desempenho analítico do ensaio foram testadas, assim como a seletividade dos primers e os limites de detecção. **Resultados:** As variações intraensaio e interobservadores foram estimadas em 30 amostras sanguíneas. Mais 153 amostras tiveram seus resultados comparados aos do método de referência (PCR_RFLP), e a concordância dos resultados foi avaliada pela estatística Kappa. As variações intra e interobservadores não foram estatisticamente significativas

($p < 0,001$). A comparação dos dois métodos pela estatística Kappa mostrou que o ensaio 5'Nuclease identificou corretamente o haplótipo H63D e S65C em todas as 153 amostras testadas. As sondas de hidrólise foram capazes de detectar dois polimorfismos próximos, sem que um interferisse no outro e sem cometer erros na genotipagem por meio do ensaio padronizado de PCR 5'Nuclease para detecção de H63D e S65C. **Conclusão:** Esses resultados abrem a perspectiva de usar os ensaios de PCR em tempo real em regiões com alta densidade de polimorfismos.

02. DEVELOPMENT OF A HEALTHCARE AND SCIENTIFIC GROUP FOR HEMOCHROMATOSIS: GRUPO BRASILEIRO DE HEMOCROMATOSE HEREDITÁRIA

Fonseca PFS^a, Cancado RD^b, Lopes MMU^c, Dinardo CL^a, Naoum FA^d, Soares MAC^e, Figueiredo MS^e, Domingos CRB^f, Santos PCJL^a, Grupo Brasileiro de Hemocromatose Hereditária (GBHH)^g

^a Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração (InCor), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Departamento de Oncologia e Hematologia, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo (FCMSCSP), São Paulo, SP, Brazil

^c Seção de Miocardiopatias, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, SP, Brazil

^d Academia de Ciência e Tecnologia (AC&T), São José do Rio Preto, SP, Brazil

^e Divisão de Hematologia e Transfusão de Sangue, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^f Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brazil

^g Grupo Brasileiro de Hemocromatose Hereditária

Introduction: Hereditary hemochromatosis (HH) is an autosomal recessive disease characterized by increased intestinal iron absorption, causing accumulation in the body and leading to tissue damage in various organs. HH can be classified according to types 1, 2A, 2B, 3, and 4, respectively, of the HFE, HJV, HAMP, TFR2, and SLC40A1 genes. The treatment is simple and effective, and promotes a normal life expectancy when the patient begins before the irreversible organ damage phase. In several countries, such as the USA, England, Germany, France, Portugal, Spain, Australia, South Africa, and Canada, there are associations and/or groups for HH. In addition, there are groups such as the European Federation of Associations of Patients with Haemochromatosis (www.efaph.eu) and the International Alliance of Hemochromatosis Associations. These groups aim to support patients with HH and their families, to provide information and education about the disease, and to improve scientific knowledge in the area. Development of a healthcare and scientific group (volunteer and non-profit) in Brazil is extremely important in order to increase information and educate the general public and health professionals about HH, and also, to aid and promote the best practices so that patients can have the same chances of treatment and therefore of survival. **Aims:** To develop a voluntary and

non-profit group composed of health professionals and patients or persons concerned focusing on the following: increasing the information about HH, promoting and supporting advances in the diagnosis and treatment, improving the quality of life of patients, and aiding in prevention of the development of disease in relatives of patients. To develop basic and clinical researches in the context of iron metabolism and hemochromatosis. **Methodology:** Health professionals and patients interested to develop and participate of the Grupo Brasileiro de Hemocromatose Hereditária (GBHH). Meetings and conversations have occurred to discuss the proposals and goals of the group. The authors have also prepared an informational site dedicated to patients, health professionals, and the general public. We developed informative materials to be delivered to patients or anyone interested in learning more about HH. **Results and conclusions:** The authors were effective in creating a Brazilian group according to the aims proposed, as well as in identifying members for GBHH and supporters. The group website was developed and is available for consultation (<http://www.hemocromatosehereditaria.com>). In addition, educational material was created to be distributed to patients and health professionals, especially in scientific events and consultation. The development of GBHH actions will promote educational assistance for the patients with HH and healthcare professionals; it is also intended to measure the effectiveness of this approach using specific tools. The authors hope to reach patients with HH and health professionals regarding early HH diagnosis and treatment. **Keywords:** Hemochromatosis; primary iron overload; healthcare; scientific group.

03. GENOME EVALUATION: FREQUENCY OF GENETIC ALTERATIONS IDENTIFIED IN PATIENTS WITH HEREDITARY HEMOCHROMATOSIS

Fonseca PFS^a, Cancado RD^b, Krieger JE^a, Pereira AC^a, Santos PCJL^a

^a Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração (InCor), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Departamento de Oncologia e Hematologia, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo (FCMSCSP), São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Hereditary hemochromatosis (HH) is an autosomal recessive disease characterized by enhanced intestinal absorption of dietary iron. Without therapeutic intervention, it leads to multiple organ damage. Most HH patients carry *HFE* mutant genotypes: homozygosity for p.C282Y or p.C282Y/p.H63D compound heterozygosity. In addition to the *HFE* gene, mutations in the genes that encode hemojuvelin (*HJV*), hepcidin (*HAMP*), transferrin receptor 2 (*TFR2*), and ferroportin (*SLC40A1*) have been associated with regulation of iron homeostasis and development of HH. The molecular epidemiology of HH is different in Brazil when compared with Northern European countries. Studies from this group reported that some patients with iron overload, whose secondary causes were excluded and who were extensively phenotyped and genotyped, were not carriers of mutations in the genes cited above. Thus, it is important to identify genetic characteristics of these samples, since this approach can achieve the identification of new mutations and new genes involved in iron homeostasis. **Aims:** The aim of this study was to research mutations by genome sequencing in samples of Brazilian patients with primary iron overload, whose secondary causes were excluded and who did not present mutations in the *HFE*, *HJV*, *HAMP*, *TFR2*, and *SLC40A1* genes. **Methodology:** The genome sequencing for seven patients with primary iron overload was performed. The study included patients with transferrin saturation $\geq 50\%$ (women) and $\geq 60\%$ (men), and absence of mutations in *HFE*, *HJV*, *HAMP*, *TFR2*, and *SLC40A1* genes. The study excluded patients with positive serology for hepatitis C, hepatitis B, alcoholic liver disease, hemolytic anemia (thalassemia, hereditary spherocytosis, sickle cell anemia, among others), those who had received multiple blood transfusions or prolonged hemodialysis, insulin resistance, inflammation, and those who showed any evidence and/or knowledge of overload associated with secondary pathologies. The genome sequencing was performed by Knome[®] (Cambridge, MA, USA) and the analyses were: whole human genome sequencing, data annotation, benchmarking, and use of visualization tools to accelerate the discovery of candidate genes or mutations. This study also researched each of the variants in 288 samples of the general population (576 control chromosomes) by high-resolution-melting (HRM) to determine the frequency of these variants. **Results:** Sequencing the *TF* (transferrin) gene revealed the presence of homozygous genotype for the G277S variant in one patient. This variant has been identified in other

studies (rs1799899, 6.9%) related to anemia and low transferrin. Also, the presence of heterozygous genotype for the G671E missense mutation was identified in the *TF* gene (rs121918677, 0.3%). In addition, the presence of homozygous genotype for the rs1609860 in the *STAB2* gene missense mutation was identified in one patient. These variants were found in samples of the general population in the following frequencies: G277S was found as heterozygous in eight samples (1.4%); G671E was found as heterozygous in only one sample (0.2%), and *STAB2* was found as heterozygous in ten samples (1.7%). **Conclusions:** The three variants were identified in the general population, but only as heterozygous. **Keywords:** Hemochromatosis; primary iron overload; genome sequencing; molecular diagnostics.

04. AVALIAÇÃO DO RDW-CV E DO RDW-SD E SUA RELAÇÃO COM O VCM PARA DETERMINAÇÃO DA PRESENÇA DE ANEMIA NA POPULAÇÃO ATENDIDA NO INSTITUTO AMADONNINA DEL GRAPPA EM FORTALEZA (CE)

Souza IP^a, Arruda ABL^a, Lemes RPG^a, Oliveira LDS^a, Machado CMG^a, Arruda AAL^a, Machado RPG^b, Mendona RC^a, Cavalcante MM^a, Ferreira LC^a, Alcântara CMM^a

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

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: Entre os índices hematimétricos, o VCM ainda é o mais largamente usado na avaliação das anemias. Adicionalmente, uma medida quantitativa da anisocitose, conhecida como RDW, tem algumas aplicações interessantes. Os laboratórios contam com duas medidas de RDW: RDW-CV (coeficiente de variação) e RDW-SD (desvio padrão). **Objetivo:** Analisar o RDW-CV e o RDW-SD e sua relação com o VCM para determinar a presença de anemia na população estudada. **Material e métodos:** Foram analisados 153 eritrogramas de pacientes nos diferentes sexos e idades com variação de um a 83 anos do Instituto Amadonina Del Grappa. Os pacientes foram divididos nas seguintes faixas etárias: um a 11, 12 a 18, 19 a 60 e maiores de 60. Os resultados foram comparados com o software GraphPad Prism[®] 5 e o teste t de Student. **Resultados:** Quanto ao eritrograma, houve significância estatística quando comparamos os resultados do sexo masculino com os do feminino. O tipo de anemia predominante foi normocítica e normocrômica ou hipocrômica. Podem ainda ocorrer hipocromia e microcitose em 20% a 30% dos casos estudados. O presente estudo também evidenciou que houve um paciente do sexo feminino na faixa etária de 12-18 que apresentou o RDW aumentado e o VCM diminuído, e que seu eritrograma deu informações que nos levaram a pensar em anemia ferropriva. Para confirmação, teríamos de fazer o estudo do ferro. Observamos que houve muitos casos possíveis de anemia quando o RDW-CV e o RDW-SD apresentaram-se normais e o VCM diminuído, visto que, em quase todos os casos, as alterações nos direcionaram principalmente para possíveis anemias ferropriva. **Conclusão:** O RDW tem-se revelado útil como discriminatório no diagnóstico diferencial das anemias, uma vez que está aumentado ainda mais precocemente. Embora esteja longe de ser confirmatório, é indicativo para o estudo das anemias microcítica hipocrômica, tal como a β -talassemia, por deficiência de ferro e das doenças crônicas.

05. ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS NOS IDOSOS ASSISTIDOS PELO LIONS CLUBE DE ACARÁ (CE)

Souza IP^a, Arruda ABL^a, Lemes RPG^a, Oliveira LDS^a, Moura CF^a, Santos FM^a, Sousa RDN^b, Cavalcante MM^a, Ferreira LC^a, Júnior JIA^c, Pereira KSG^a

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

^b Lions Clube de Acará, Acará, CE, Brasil

^c Clínica Laca Saúde, Acará, CE, Brasil

Introdução: Houve, nos últimos anos, um considerável aumento da população de idosos em escala mundial, de modo que estudos sobre as doenças próprias da velhice se tornaram fundamentais para orientação da política pública na área de saúde. **Objetivo:** Avaliar os aspectos hematológicos e bioquímicos em pacientes idosos assistidos pelo Lions Clube de Acará (CE). **Material e métodos:** Foram coletadas duas amostras de sangue periférico em 28 idosos dos sexos masculino e feminino. Uma amostra foi colhida com anticoagulante (EDTA), e outra sem anticoagulante. As variáveis analisadas foram hemograma e parâmetros bioquímicos

(glicose, ureia, creatinina, colesterol total e triglicerídeo). **Resultados:** Observamos que os idosos assistidos pelo Lions de Acaraú apresentaram índice elevado de pressão arterial (50,1%), embora apenas as mulheres tenham apresentado taxas de glicose aumentada. Com relação ao hemograma, não houve alteração significativa. Todos os parâmetros avaliados estavam dentro da normalidade. As maiores alterações foram verificadas nos parâmetros bioquímicos. O sexo feminino foi o que apresentou maiores alterações nas taxas de glicose. Em contrapartida, todos os homens da amostra apresentaram colesterol, triglicerídeos e creatinina alterados. **Conclusão:** Alguns desses resultados divergem dos encontrados por outros pesquisadores na literatura. Contudo, essa diferença pode estar relacionada às diferenças regionais.

06. PERFIL HEMATOLÓGICO E FREQUÊNCIA DE ANEMIA ENTRE IDOSAS INSTITUCIONALIZADAS

Arruda ABL, Lemes RPG, Castro MF, Viana NAS, Souza IP, Silva JS, Praciano JBA, Pinheiro AES, Medeiros JT, Barros AEC, Arruda AAL

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

Introdução: No Brasil, nas últimas décadas, tem ocorrido o crescimento acelerado da população de idosos. Esse aumento traz consigo novos desafios, entre eles a alta prevalência de anemia nesses indivíduos, que está associada a maior morbidade e mortalidade presentes nessa parcela da população. A prevalência de anemia em indivíduos da terceira idade varia consideravelmente na literatura. É maior em idosos hospitalizados e em moradores de instituições de longa permanência (ILP). **Objetivo:** Verificar o perfil hematológico e a frequência de anemia entre idosas institucionalizadas. **Material e métodos:** Foram estudadas 21 idosas residentes na Casa de Nazaré, em Fortaleza (CE), de maio a julho de 2014. Foram excluídas do estudo as idosas que referiram a ingestão de sais de ferro nos últimos 30 dias prévios à coleta de dados, que estavam acamadas e/ou que não quiseram participar. O hemograma foi feito com o aparelho Sysmex-Roche, modelo KX-21N; a análise qualitativa foi feita em extensões de sangue examinadas ao microscópio de luz (Olympus), sob objetiva de imersão (100x), e, na análise estatística, usou-se o programa de **software** Microsoft Office Excel 2007[®]. **Resultados:** Das 21 idosas analisadas, 16 (76,2%) apresentaram eritrograma normal, e cinco (23,8%) tinham anemia. Das anêmicas, todas tinham acima de 70 anos, eram de cor parda e recebiam até dois salários mínimos. Quanto à anemia, era do tipo morfológico normocítica e normocrômica e de intensidade leve. Duas idosas, além de anemia, apresentavam leucocitose e neutrofilia. Com relação ao leucograma, 12 (57,1%) exibiram contagens global e diferencial de leucócitos normais, sete (33,3%) leucopenia com contagem diferencial normal e duas (9,6%) leucocitose com neutrofilia. A contagem plaquetária foi normal na maioria das pacientes (90,5%), e duas (9,5%) apresentaram plaquetopenia. **Conclusão:** No geral, o perfil hematológico foi normal, e o predomínio de normocromia e normocitose nas idosas anêmicas aponta a possibilidade de anemia por doença crônica ser a etiologia dominante nesse grupo populacional.

07. FREQUÊNCIA DE CITOPENIAS NO LABORATÓRIO SAMUEL PESSOA EM FORTALEZA (CE)

Souza IP^a, Arruda ABL^a, Lemes RPG^a, Castro MF^a, Barros AEC^a, Santos FM^a, Mendona RC^a, Neto CS^a, Ricardo IS^a, Ferreira CMS^a, Magalhães NPP^b

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

^b Laboratório Samuel Pessoa, Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: As citopenias caracterizam-se quando a contagem de células sanguíneas é baixa. São também responsáveis por alguns sintomas, como infecção, anemia, hemorragia espontânea e tendência a apresentar manchas na pele produzidas por extravasamento de sangue. A presença de citopenias periféricas associadas às alterações morfológicas, no entanto, não é, por si só, evidência de doença local. A falta de um marcador confiável pode comprometer o diagnóstico, que, uma vez confirmado, implica evolução para insuficiência medular e progressão para leucemia aguda. **Objetivo:** Avaliar a frequência de citopenias no Laboratório Samuel Pessoa, em Fortaleza (CE). **Material e métodos:** Foram analisados 95 hemogramas de pacientes nos diferentes sexos e idades. Variaram entre 20 e 101 anos e foram divididos nas seguintes faixas: 20 a 29, 30 a 49, 50 a 69 e maiores de 70. Os resultados foram submetidos a análises estatísticas por meio do **software** Microsoft Excel[®] 2007, e os gráficos compa-

rados com o **software** GraphPad Prism[®] 5 e o teste t de Student para $p < 0,05$. **Resultados:** Quanto ao eritrograma, houve significância estatística quando comparamos os resultados do sexo masculino com os do feminino. O tipo de anemia predominante foi normocítica e normocrômica, seguida de microcítica e macrocítica. Apenas uma paciente apresentou dupla população (microcítica e macrocítica). Quanto ao leucograma, não houve diferença estatística entre os sexos. A citopenia foi observada nas três linhagens estudadas, nas quais 18,74% dos pacientes apresentaram oligocitemia, 65,62% leucopenia e 27,12% plaquetopenia. Ao avaliar a associação da celularidade, observamos que 3,12% dos pacientes apresentaram hemácias e leucócitos ou hemácias e plaquetas baixas, 8,34% leucócitos e plaquetas e apenas uma paciente do sexo feminino (1,04%) apresentou pancitopenia. **Conclusão:** O achado de citopenias periféricas é extremamente importante para a suspeita de doenças hematológicas em adultos, principalmente a síndrome mielodisplásica, e a análise da medula óssea é fundamental para a elucidação de seu diagnóstico.

08. INCIDÊNCIA DE ANEMIA FERROPRIVA EM UM HOSPITAL PÚBLICO DE FORTALEZA (CE)

Souza IP^a, Arruda ABL^a, Lemes RPG^a, Barros AEC^a, Machado RPC^b, Santos FM^a, Castro MF^a, Nojosa AKB^a, Júnior JIA^c, Abreu MAL^a

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

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, CE, Brasil

^c Clínica Laca Saúde, Acaraú, CE, Brasil

Introdução: A anemia por deficiência de ferro é a mais comum das carências nutricionais, com maior prevalência em mulheres e crianças, principalmente nos países em desenvolvimento. Para detectar inicialmente um quadro de anemia, é preciso fazer uma análise detalhada do hemograma por meio da linhagem eritrocitária (série vermelha do sangue). Já as dosagens de ferro e ferritina sérica garantem a etiologia ferropriva da anemia. **Objetivo:** Avaliar a incidência de anemia ferropriva em um hospital público de Fortaleza (CE). **Material e métodos:** Foram analisadas 83 pacientes de ambos os sexos com variação de um a 90 anos, de setembro a dezembro de 2012. Foram colhidas duas amostras de sangue por punção venosa, uma com anticoagulante EDTA para confecção do hemograma e outra sem, para determinação das dosagens de ferro e ferritina. Foram feitos os cálculos para determinação do índice de saturação da transferrina. Os dados obtidos foram analisados com o programa Microsoft Excel[®], com o qual determinamos os valores máximos e mínimos, a média e o desvio padrão, com o **software** GraphPad Prism[®] 5 e com o teste t de Student para $p < 0,05$. Da população estudada, observou-se que 67% (26) dos indivíduos foram do sexo masculino e 33% (54) do feminino. As faixas etárias predominantes foram de 35 a 60, com 42,6%, seguida da acima de 60, com 28,2%, e de 19 a 34, com 18,1%. Na população estudada existiam apenas cinco crianças (6%), de um a 12 anos. **Resultados:** Ao avaliar o eritrograma, observamos valores diminuídos para VCM (16,9%), HCM (57,3%), CHCM (12,6%) e RDW (14,4%). Quanto à morfologia das hemácias, encontramos, principalmente, anisocitose, hipocromia e microcitose, com elevada presença de hemácias normocíticas e normocrômicas. Ao classificar os diferentes tipos de anemia, observamos que 49,4% dos indivíduos apresentaram anemia leve, 18% moderada e apenas 3,6% grave. Quanto à avaliação do perfil do ferro, 55% apresentaram ferro diminuído, 10% ferritina diminuída e 78,8% índice de saturação da transferrina aumentado. Ao analisar a associação do perfil do ferro e comparar com o estágio da anemia, observamos que 10% dos pacientes estavam no primeiro estágio, 41% no segundo e 10,8% no terceiro.

09. ANÁLISE DAS VARIÁVEIS VENTILATÓRIAS E METABÓLICAS OBTIDAS NO PICO DO TESTE CARDIOPULMONAR DE ESFORÇO EM PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA COM E SEM ANEMIA CARENICIAL

Rebello ACS, Soares V, Vale AFD, Barbosa EC, Silva MS, Gassi E, Vieira MF, Simões K

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: A probabilidade de progressão da doença renal crônica é determinada por interações complexas que envolvem fatores clínicos, como idade, diabetes, hipertensão, proteinúria, dislipidemia, anemia e complicações metabólicas. Poucos estudos foram feitos com o teste car-

diopulmonar de exercício (TCPE) em pacientes com insuficiência renal crônica, incluindo a anemia carencial. **Objetivo:** Análise comparativa das variáveis ventilatórias obtidas no TECP em pacientes com insuficiência renal crônica com e sem anemia carencial. **Material e métodos:** Foram selecionados 22 pacientes com insuficiência renal crônica subdivididos em dois grupos, um ($n = 10$; idade de $56,2 \pm 8$) com anemia carencial (AC) e outro sem (SAC, $n = 12$; idade de $57,9 \pm 11,4$). Os pacientes fizeram exames bioquímicos de sangue. A anemia carencial foi definida como hemoglobina (Hb) < 12 mg/dL e hematócrito (Ht) $< 35\%$. Além disso, foram submetidos ao TCPE para avaliação da capacidade funcional aeróbia. Para o TCPE, os pacientes foram agendados em dias alternados à hemodiálise e sempre na sessão intermediária da semana. O ergômetro de escolha foi uma esteira rolante (Mícromed®) com velocidade máxima de 18 km/h e inclinação máxima de 25%. A análise dos gases foi feita com o analisador da Cortex (Metalyser II). O equipamento foi calibrado para a pressão barométrica, o gás ambiente e a mistura de gás (O_2 a 12% e CO_2 a 5%) e para fluxo e volumes. Para execução do teste, foi adaptado, a partir do protocolo de Bruce, um protocolo de degrau. Ele foi feito em esteira rolante com tempo de duração (repouso, aquecimento, exercício e recuperação) total de 15 minutos. Cada paciente iniciou o teste com uma caminhada de 2 km/h e inclinação a 1%, que foram incrementadas a cada minuto. Todos foram incentivados a alcançar uma velocidade de 6 km/h e inclinação de 8% no fim do procedimento. O teste foi interrompido pelos pacientes quando apresentaram dispnéia ou fadiga de membros inferiores ou quando apresentavam os critérios de interrupção de teste de acordo com o American College of Sports Medicine. Análise estatística: teste não paramétrico de Mann Whitney ($p < 0,05$). **Resultados:** O grupo AC apresentou valores de Hb ($31,9 \pm 1,9$ g/dL) e Ht ($10,3 \pm 0,8\%$) inferiores se comparado ao grupo SAC ($36,9 \pm 3,1$ g/dL e $12,1 \pm 1,2\%$). Para as variáveis consumo de oxigênio (VO_2 , mL/kg/min⁻¹), produção de gás carbônico (VCO_2 , mL/kg/min⁻¹) e ventilação (VE, L/min), o grupo AC apresentou valores inferiores e estatisticamente significativos se comparado ao grupo SAC ($p < 0,05$). Não houve diferença estatística nos dados de razão de troca respiratória (VCO_2/VO_2) e frequência respiratória (RPM). **Discussão:** A diminuição da capacidade funcional aeróbia é de causa multifatorial, como problemas cardiovasculares, respiratórios e musculares, nos quais a capacidade de captar, transportar e usar o O_2 pode estar prejudicada. **Conclusão:** A capacidade aeróbia foi diminuída em pacientes com insuficiência renal associada à anemia carencial e comprometeu o VO_2 obtido no pico do esforço, principal indicador da integridade do metabolismo oxidativo que envolve grandes grupos musculares.

10. FREQUÊNCIA DE ANEMIA EM CRIANÇAS USUÁRIAS DE UM HOSPITAL PÚBLICO DA CIDADE DE CARNAUBAL (CE)

Arruda ABL, Araújo PMC, Souza IP, Lemes RPG, Arruda AAL, Medeiros JT, Silva JS, Praciano JBA, Pinheiro AES, Castro MF, Lima AB

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

Introdução: As anemias nutricionais resultam da carência simples ou combinada de nutrientes como o ferro, o ácido fólico e a vitamina B12 e ocorrem com maior frequência entre a população infantil de países em desenvolvimento. Na criança, a anemia, além de fadiga, emagrecimento e palidez, provoca a redução da função cognitiva, do crescimento e do desenvolvimento psicomotor. **Objetivo:** Verificar a frequência de anemia em crianças usuárias de um hospital público de Carnaubal (CE). **Material e métodos:** O estudo foi composto por 250 crianças, de ambos os sexos, com até oito anos e residentes em Carnaubal. A amostra de sangue foi colhida de janeiro a junho de 2013. O hemograma foi feito com o aparelho Sysmex-Roche, modelo KX-21N, e por meio de extensões de sangue examinadas a microscópio de luz (Olympus), sob objetiva de imersão (100x). Na análise estatística, usou-se o *software* Microsoft Office Excel 2007®. **Resultados:** Das 250 crianças avaliadas, 32 (12,8%) apresentaram anemia de intensidade leve. O tipo morfológico predominantemente foi microcítico e hipocrômico. Das crianças anêmicas, 32,8% tinham até dois anos, 53,12% eram do sexo masculino, a maioria recebeu leite materno, 68,75% moravam em bairros de baixo nível socioeconômico, todos os pais e mães tinham menos de dez anos de estudo e a maior parte das famílias era composta por dois a quatro filhos (70%). **Conclusão:** A elevada frequência de anemia em crianças menores de 24 meses demonstra a importância do cuidado nutricional com os lactentes e reforça a introdução de medidas de prevenção e controle da anemia nas crianças dessa cidade.

11. HEMOGRAMA DE PACIENTES RENAIIS CRÔNICOS SUBMETIDOS À TERAPIA HEMODIALÍTICA

Arruda ABL, Lemes RPG, Souza IP, Arruda AAL, Castro MF, Silva JS, Praciano JBA, Pinheiro AES, Viana NAS, Ricardo IS, Mota AM

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

Introdução: A doença renal crônica (DRC) é caracterizada por lesão renal que causa perda progressiva e irreversível da função dos rins. Os rins não conseguem mais manter a normalidade do meio interno do paciente e acarretam a redução da capacidade de filtrar substâncias tóxicas e alterações metabólicas e hormonais; assim, a sobrevida do portador de DRC passa a depender de tratamento de substituição renal, da hemodiálise e/ou do transplante renal. A presença de doença renal crônica significa o aparecimento de várias alterações clínico-laboratoriais. O rim está relacionado à produção de eritrócitos, pois é o principal responsável pela produção de eritropoetina do corpo, que é o mais importante regulador do processo de formação das hemácias. Portanto, na DRC, a deficiência relativa de eritropoetina constitui a principal causa de anemia e interfere diretamente na qualidade de vida dos pacientes. **Objetivo:** Definir o perfil hematológico de portadores de doença renal crônica submetidos à hemodiálise, em uso de eritropoetina, tratados com ferro oral, em Canindé (CE), de janeiro de 2012 a agosto de 2012. **Material e métodos:** Estudo observacional, retrospectivo descritivo, com abordagem quantitativa. Os dados foram obtidos a partir de exames dos 60 pacientes com doença renal crônica que faziam tratamento em uma clínica de hemodiálise em Canindé (CE), dos quais 70% eram do sexo masculino e 20% tinham entre 61 a 70 anos. **Resultados:** A anemia estava presente em 71,66% da população em estudo e caracterizava-se como normocítica e normocrômica. Na contagem de leucócitos e plaquetas, 71,67% e 97%, respectivamente, dos pacientes apresentaram valores normais. Foram feitas as análises das variações da hemoglobina e do hematócrito no período de quatro meses, e constatou-se que a minoria dos pacientes (17%) conseguiu se manter nos níveis recomendados (11 a 12 g/dL e 33% a 36%, respectivamente). **Conclusão:** O atual estudo corrobora outras pesquisas encontradas na literatura e pode servir como base para o desenvolvimento de medidas de promoção à saúde dos pacientes portadores dessa doença.

12. HIDROXIUUREIA INIBE A INFLAMAÇÃO PRODUZIDA POR HEMÓLISE VIA DEPENDENTE DE ÓXIDO NÍTRICO

Almeida CB^a, Souza LEB^b, Costa FTM^c, Werneck C^c, Covas DT^b, Costa FF^a, Conran N^a

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

^b Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A hemólise ocorre em doenças como malária, sepse e anemias hemolíticas (ex: anemia falciforme [AF]) com consequências importantes, pois a liberação de hemoglobina livre (HbL) no vaso reduz a oferta de óxido nítrico (NO), induz o estresse oxidativo e a inflamação e pode contribuir para a vaso-oclusão na AF. Hidroxiureia (HU), usada no tratamento da AF por induzir a produção de Hb fetal, também atua ao doar NO. **Objetivo:** Observar os efeitos da hemólise/HbL em processos inflamatórios em camundongos C57BL6 (*cam*) e células endoteliais (Huvec) e verificar os efeitos da HU nesses eventos. **Material e métodos:** Induzimos hemólise ou um processo inflamatório em *cam* (2-4 meses) pela injeção intravenosa (IV) de água (H_2O - 150µL, 15 min) ou TNF- α (0,5µg, i.p., 210 min), respectivamente, e observamos o recrutamento dos leucócitos (Leu) na microvasculatura (músculo cremaster) por microscopia intravital (IVM; 7-8 vênulas/*cam*). Avaliamos a inflamação por IVIS (*in vivo imaging system*) com uma sonda quimioluminescente específica para mieloperoxidase. Quantificamos HbL plasmática pelo método de Drabkin. *In vitro*, incubamos Huvecs com Hb (10 mg/mL, 240 min) e avaliamos a expressão de moléculas de adesão e liberação de quimiocinas por citometria de fluxo e Elisa. **Resultados:** H_2O aumentou significativamente HbL em *cam* comparado com os que receberam salina ($2,6 \pm 0,4$ e $1,1 \pm 0,9$ g/dL HbL, respectivamente, $p < 0,01$, $n = 3-5$). Níveis similares de HbL plasmática pós- H_2O foram encontrados em *cam* com AF (dados não mostrados). Já *cam* que receberam TNF- α não exibiram alterações na HbL ($1,2 \pm 0,1$ g/dL; $n = 3$). IVIS demonstrou que a H_2O induz uma inflamação sistêmica

significante comparada com a salina ($27,8 \times 10^5 \pm 9,7 \times 10^5$ e $6,6 \times 10^5 \pm 1,0 \times 10^5$ p/s, respectivamente, $p < 0,05$, $n = 3$) e quase atinge os níveis de **cam** tratados com TNF- α ($41,0 \times 10^5 \pm 1,7 \times 10^5$ p/s, $n = 3$). IVM mostrou que o estímulo tanto com H₂O quanto com TNF- α induz a adesão de Leu à parede vascular ($9,9 \pm 1,1$; $11,1 \pm 0,9$; $3,9 \pm 0,4$ Leu aderidos/100 μ m; H₂O, TNF- α e salina, respectivamente, $p < 0,001$ comp. à salina, $n = 21-30$ vênulas) e o extravasamento dos Leu ($p < 0,05$). Ao aplicarmos HU (250 mg/kg IV) com a H₂O, inibimos tanto a adesão ($2,5 \pm 0,3$ Leu/100 μ m; $p < 0,001$ comp. H₂O; $n = 21-30$ vênulas) quanto o extravasamento de Leu ($p < 0,05$), sem alterar a HbL plasmática ($p > 0,05$). O uso do inibidor de guanilato ciclase (GC-ODQ; 15 mg/kg) junto com HU aboliu os efeitos da HU no recrutamento dos Leu e inflamação ($p < 0,001$). Nas Huvecs, a Hb estimulou a expressão de VCAM-1 e E-selectina ($p < 0,05$, $n = 8/9$), que foi parcialmente inibida pela coadministração da HU ($p < 0,05$). Observamos efeitos similares na liberação de MCP-1 e IL-8 pelas Huvecs, na qual a Hb induziu a produção dessas pelas Huvecs ($p < 0,05$) com uma inibição parcial na presença de HU ($p < 0,05$). **Discussão:** Indução de hemólise *in vivo* culmina em inflamação sistêmica e alterações no recrutamento de Leu, parcialmente mediado pela ativação do endotélio. HU reduz significativamente a inflamação e o recrutamento de Leu à parede vascular e diminui a ativação endotelial; esses efeitos não foram mediados pela inibição da hemólise, e sim por uma via dependente de NO/GC/GMPc. **Conclusão:** Estabelecemos que a hemólise é um mecanismo fisiopatológico e inflamatório significativo, com contribuição fundamental para doenças como a AF. Além disso, a HU tem propriedades antiinflamatórias importantes e imediatas que são independentes da produção de HbF, o que indica um potencial uso dessa droga em outras doenças que exibam hemólise e inflamação.

13. PERFIL DO ESTADO DO FERRO E FREQUÊNCIA DE ANEMIA EM PACIENTES RENAI CRÔNICOS EM TRATAMENTO DE HEMODIÁLISE

Arruda ABL^a, Barreto HA^a, Lemes RPG^a, Souza IP^a, Arruda AAL^a, Neto CS^a, Silva JS^a, Praciano JBA^a, Lima AB^b, Pinheiro AES^a, Ricardo IS^a

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

^b Prefeitura Municipal de Fortaleza, Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: A insuficiência renal crônica (IRC) é uma síndrome metabólica decorrente da perda progressiva da capacidade excretória renal. A anemia é uma complicação comum na evolução da IRC. A incidência é maior naqueles que fazem hemodiálise e está associada a risco de problemas cardiovasculares e aumento da mortalidade e morbidade desses pacientes. O acompanhamento desses pacientes, por meio de exames laboratoriais, consiste em uma medida fundamental para avaliar a saúde e o sucesso do tratamento desses indivíduos. **Objetivo:** Avaliar a frequência de anemia e o perfil dos parâmetros bioquímicos (ferro, ferritina e índice de saturação da transferrina) em pacientes com insuficiência renal crônica e em tratamento de hemodiálise. **Material e métodos:** Estudo observacional, retrospectivo descritivo, com abordagem quantitativa. Os dados pessoais e laboratoriais foram obtidos de prontuários de pacientes com IRC que usavam os serviços de um laboratório de análises clínicas em Fortaleza (CE) e que dá apoio a duas clínicas de hemodiálise em Caucaia e Canindé (CE). A análise estatística usou o **software** Microsoft Office Excel 2007[®]. Foram estudados 69 pacientes, e os dados foram comparados com os encontrados na literatura. O predomínio de pacientes com IRC foi do sexo masculino (65,38%) e a faixa etária mais frequente entre 51 e 60, num total de 17 pacientes (24,63%). **Resultados:** Dos pacientes estudados, 72,46% tinham anemia morfológicamente normocítica e normocrômica e predominantemente de grau leve. A maioria apresentou dosagens do ferro, ferritina e índice de saturação da transferrina normais, 60,86%, 94,20% e 81,15%, respectivamente. **Conclusão:** Apesar da alta frequência de anemia, o perfil do estado do ferro estava normal na maioria dos casos, e esses dados estavam concordantes com a literatura pesquisada.

14. ANEMIA FERROPRIVA POR ANGIODISPLASIA DE INTESTINO DELGADO DIAGNOSTICADA POR CÁPSULA ENDOSCÓPICA – RELATO DE CASO

Machado ES, Fachin SM, Zílio R, Quaresma AB, Rigo SR

Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC), Joaçaba, SC, Brasil

Introdução: A anemia ferropriva por perda continua sendo um prevalente problema de saúde. Uma das principais indicações da cápsula endoscópica é justamente a sua investigação, após endoscopia digestiva alta

(EDA) e baixa inconclusivas.¹ Entre os principais achados do exame está a angiodisplasia, causa rara de sangramento intestinal, que pode ser aguda (rara) ou crônica e de baixo débito, e levar à anemia.² **Relato do caso:** Mulher, 63 anos, já em acompanhamento por 10 anos em outro município por anemia ferropriva sem causa identificada (EDA, colonoscopia e imunofenotipagem para hemoglobinúria paroxística noturna negativas), procura atendimento com hematologista em Joaçaba (SC) por fadiga aos esforços, astenia e palidez. Sem sangramento gastrointestinal evidente. Aos exames iniciais, Hb 7,2 g/dL, Ht 25%, RDW 15%, VCM 75,2 μ ³; leucócitos, 2.600 cels/mm³, plaquetas 180.000/mm³, ferritina 3,0 mcg/L, reticulócitos 3%. Funções renal, tireoidiana e hepática normais. Iniciada reposição de ferro oral 180 mg/dia. Manteve-se em acompanhamento trimestral de 2007 até 2012, quando teve piora do cansaço e da distribuição dos leucócitos. Optou-se por repetir exames. A EDA manteve-se normal. Fez-se estudo de medula óssea, incluindo pesquisa para síndrome mielodisplásica, que foi normal (somente hiperplasia leve da série eritróide). À colonoscopia, porém, foi possível visualizar, além da válvula íleo-cecal, angiectasias com sangramento ativo em íleo terminal. Foi então solicitada cápsula endoscópica, com confirmação de tal sangramento, e posteriormente enteroscopia, que visualizou 15 ou mais angiectasias no jejuno. Submetida à eletrocoagulação com plasma de argônio, apresentou boa resposta clínica e melhora da anemia. **Discussão e conclusão:** Angiodisplasias intestinais são vasos ectasiados,² encontrados em apenas 3% da população, relacionados com a idade avançada. Normalmente, o sangramento é autolimitado e oculto, manifestado na pesquisa de sangue oculto nas fezes e anemia ferropriva.³ A cápsula endoscópica tem destaque como método diagnóstico.⁴ O tratamento de escolha é a eletrocoagulação com plasma de argônio, que permite estabilizar a anemia e diminuir a recorrência de sangramento e a necessidade de transfusões em longo prazo.² O caso apresentado mostra a importância de investigar cuidadosamente a anemia ferropriva. Trata-se de um caso de relativa raridade, revela uma das principais indicações da cápsula endoscópica e ressalta a resposta com eletrocoagulação com plasma de argônio.

Referências:

- Cañas-Ventura A, Márquez L, Bessa X, Dedeu JM, Puigvehí M, Delgado-Aros S, et al. Outcome in obscure gastrointestinal bleeding after capsule endoscopy. *WJGE*. 2013;11(5):551-8.
- Fernandes SS, Ferreira M, Romãozinho JM, Ferreira M, Amaro P, Leitão MC. Caracterização da hemorragia digestiva aguda severa por angiodisplasia. *J PortGastroenterol*. 2009;16(4):142-8.
- Diggs NG, Holub JL, Lieberman D, Eisen GM, Strate LL. Factors that contribute to blood loss in patients with colonic angiodysplasia from a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011;9(5):415-20.
- Freitas GP, Teixeira N, Feldman G. Capsule endoscopy in clinical practice – four years of experience from a single center. *Arq Gastroenterol*. 2011;48(3):220-2.

15. PREVALÊNCIA DE ANEMIA EM PACIENTES HOSPITALIZADOS COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

Maluf EMCP, Delfrate EFG, Ceulemans N, Padoani PW, Correa RB, Cavalini WLP

Universidade Positivo, Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome clínica que pode ser desencadeada por qualquer evento que leve a alteração estrutural ou funcional do coração. Entre as causas estão as doenças vasculares do coração, as doenças do miocárdio e os distúrbios de condução. No Brasil, a principal causa é a cardiopatia isquêmica associada à hipertensão arterial. Nos pacientes com IC, a anemia é uma comorbidade associada nos mais idosos e ao avanço da doença. Sua presença está relacionada a um pior prognóstico por causa da intolerância a atividades físicas, severidade clínica avançada e aceleração da falência cardíaca, além de maior mortalidade. A íntima relação entre IC e anemia, tema pouco abordado no Brasil, e a importância de caracterizar a anemia nessa população tornaram o assunto material de pesquisa. **Objetivo:** Determinar a prevalência de anemia em pacientes diagnosticados com IC em um hospital universitário de Curitiba (PE), caracterizar a morfologia da anemia e correlacionar a classe funcional da New York Heart Association (NYHA) com a prevalência da anemia. **Material e métodos:** Estudo transversal, retrospectivo, que avaliou os prontuários dos pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS) internados por descompensação da IC no Hospital Universitário da Cruz Vermelha de Curitiba de 1 de janeiro de 2010 a 31 de dezembro de 2013. A

análise foi feita a partir dos prontuários, disponíveis na forma eletrônica, no serviço de Cardiologia da instituição. Desses, foram consultados os dados epidemiológicos dos pacientes e as informações do hemograma na admissão. A análise do hemograma se baseou na série vermelha, e verificaram-se os resultados de hemoglobina, VCM, CHCM e RDW. Os valores de referência adotados para caracterizar anemia seguem orientação da OMS (HB < 12,0 g/dL em mulheres e < 13,0 g/dL em homens) e, para a morfologia, a referência do laboratório do hospital. Foram excluídos prontuários incompletos, idade menor do que 18 anos, ausência de hemograma na admissão do hospital e pacientes que apresentavam infecção bacteriana ativa, insuficiência renal e doença arterial coronariana. Foram incluídos 127 pacientes. A média de idade foi de $68 \pm 13,8$ anos, e houve distribuição semelhante de gênero (52,8% masculino). Pouco mais de 65% eram classe funcional III da NYHA e 29% classe IV, 95% declararam ser da etnia branca e 71% declararam ter ensino fundamental. **Resultados:** A prevalência total de anemia encontrada na população foi de 42,5%, com distribuição de 12,5% e 27,5% ($p = 0,003$) em classes funcionais III e IV, respectivamente. A morfologia mais encontrada foi a de combinação normocítica e hipocrômica (54%), seguida de normocítica e normocrômica (31%). Somente dois pacientes foram tratados para anemia, e três evoluíram com necessidade de transfusão. Cinco internamentos (quatro anêmicos) evoluíram para óbito. **Conclusão:** O estudo mostrou maior prevalência de anemia entre os pacientes com IC de classe funcional IV. Independentemente da severidade, a atenção para a existência de casos de anemia em pacientes com insuficiência cardíaca descompensada pode ser uma forma de diminuir a morbimortalidade dos pacientes hospitalizados.

16. PESQUISA DE ANEMIA EM PACIENTES SOB TRATAMENTO DE HEMODIÁLISE NA CIDADE DE RIO DO SUL (SC)

Kisner R, Branco FRP

Universidade do Contestado (UnC), Mafra, SC, Brasil

Introdução: A insuficiência renal crônica (IRC) é um importante problema para saúde pública. Doenças metabólicas e sistêmicas, como hipertensão arterial, *diabetes mellitus* e outros distúrbios, geram IRC. O paciente pode desenvolver complicações que interferem na sua qualidade de vida, como pressão sanguínea arterial elevada, anemia, problemas relacionados à integridade óssea, nutrição prejudicada e afecções nervosas. Além disso, a insuficiência renal aumenta o risco do desenvolvimento de doenças cardíacas e em vasos sanguíneos. O tratamento dialítico, por meio das diálises (hemodiálise, diálise peritoneal e transplante renal), tem possibilitado maior sobrevida aos pacientes. **Objetivo:** Pesquisar a ocorrência de quadros anêmicos em pacientes submetidos à hemodiálise e (I) verificar a distribuição da população sob hemodiálise em relação a faixa etária e gênero; (II) pesquisar valores de marcadores de função renal antes e após a hemodiálise, e (III) observar a ocorrência de alterações nos índices hematimétricos. **Material e métodos:** A população alvo da pesquisa foram indivíduos com IRC submetidos à hemodiálise, atendidos em um laboratório de Rio do Sul (SC) em 2013. Foram incluídos aleatoriamente 30. A coleta dos dados foi feita por meio da pesquisa em bancos de dados informatizado e não informatizado que ficaram arquivados na unidade laboratorial. Os parâmetros hematológicos (eritrograma) foram obtidos por meio do contador automatizado Sysmex XS 1000™, enquanto analitos como ureia, creatinina, cálcio, fósforo, ferro, ferritina, transferrina e índice de saturação de transferrina (IST) foram obtidos a partir de análises no equipamento Miura 300®. Os dados referentes à concentração de potássio foram obtidos por meio de espectrofotometria de chama. **Resultados:** Observou-se que a média de concentração de hemoglobina (g/dL) na população estudada foi de $12,01 \pm 1,06$, com mediana de 12, e que a ocorrência de quadro anêmico em pacientes submetidos a hemodiálise em Rio do Sul (SC) foi de 56,6%, provavelmente reflexo da diminuição na produção endógena de eritropoietina (EPO). A maior parte da população estudada concentrou-se entre 40 e 69 anos (66%), variação entre 28 e 83 anos. Em relação ao gênero, as mulheres foram maioria, com 60%. No que diz respeito aos índices hematimétricos, de hemoglobina corpuscular média (HCM) e de volume corpuscular médio (VCM), não foi observada variação entre os pacientes anêmicos. Por isso, foram caracterizados com quadros de anemia normocítica e normocrômica. **Conclusão:** Ficou evidenciada na população estudada a ocorrência de quadros anêmicos, classificados na maioria dos casos como anemia leve ou discreta. Tal evidência deve ser considerada um problema clínico importante, cuja evolução favorável do quadro depende da qualidade do tratamento.

17. FREQUÊNCIA DE MICRONUCLEAÇÃO E DE OUTRAS ALTERAÇÕES NUCLEARES EM CÉLULAS DA MUCOSA BUCAL DE PACIENTES ANÊMICOS

Ferri RNS, Tomaz BCA, Filho JB

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Os biomarcadores são parâmetros mensuráveis, que fornecem informações sobre o estado fisiológico e patológico de um organismo exposto aos agentes mutagênicos. Atualmente, tomaram novos rumos na biologia molecular. Destaca-se o teste citogenético do micronúcleo para avaliar quebras ou perdas cromossômicas e disfunções do fuso mitótico, oriundas de ações genotóxicas. Trata-se de um método não invasivo, eficaz e de baixo custo aplicado em células lábeis, que permite o biomonitoramento das alterações cromossômicas em variadas circunstâncias. A frequência de micronucleação pode ser mensurada em situações de exposição a ambientes e a substâncias com alto poder genotóxico, que compõem os hábitos de vida, as deficiências nutricionais, o ambiente ocupacional e outras condições. Muitas anemias, por exemplo, apresentam sua gênese na deficiência nutricional e têm como consequência o aumento das lesões no DNA, assim como estresse oxidativo elevado. A deficiência de ácido fólico e de vitamina B12 determina maiores suscetibilidades à instabilidade cromossômica, seja pela carência de cofatores essenciais para proliferação celular da medula ou por lesões oxidativas diretas ao material genético, com implicações no sistema de reparação do DNA. **Objetivo:** Avaliar a frequência de micronucleação e de outras alterações nucleares em células da mucosa bucal de adultos anêmicos a partir do teste citogenético do micronúcleo. **Material e métodos:** Foi conduzido com 60 indivíduos, dos quais 30 eram portadores de anemia carencial, hemolítica e secundária a neoplasia, e 30 compuseram o grupo controle. Com o auxílio de escovas *cytobrush*, amostras de células da mucosa bucal foram colhidas e processadas conforme o protocolo de Thomas et al. (2009). As lâminas confeccionadas foram avaliadas microscopicamente para os critérios de proliferação, de genotoxicidade, de citotoxicidade e de morte celular. Já a análise estatística foi fundamentada nos testes de Levene e t de Student. **Resultados:** Foi possível observar que a frequência de micronucleação e de outras alterações nucleares foi maior em pacientes portadores de anemia, enquanto o grupo controle apresentou maior capacidade proliferativa. Os hábitos de vida da população estudada também influenciaram nos critérios celulares avaliados. A elevada frequência de micronúcleos em anêmicos foi atribuída ao estresse oxidativo, ao déficit nutricional ou a outras condições predisponentes, como a etiologia genética da anemia ou a presença de doença crônica. **Discussão:** A literatura demonstra que a deficiência de antioxidantes e a supressão de outras substâncias fundamentais para o reparo do DNA, como a vitamina B12 e o ácido fólico, influem de forma direta na estabilidade do genoma. Quanto à genotoxicidade dos hábitos de vida, os resultados mostraram-se compatíveis com estudos recentes: apontaram os efeitos negativos do álcool, de determinados fármacos e do tabaco sobre o material genético. **Conclusão:** Compreender a relação entre a frequência de micronucleação e a genotoxicidade em células lábeis tem valorizado a importância do teste citogenético do micronúcleo no biomonitoramento do DNA em situações de estresse oxidativo.

18. ÚLCERA DE CAMERON COMO CAUSA DE ANEMIA FERROPRIVA – RELATO DE CASO

Inojosa AC, Correia MCB, Rilhas GP, Costa MFH, Correia CWB, Brandao R, Koury J

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

Introdução: As úlceras de Cameron foram inicialmente descritas por Cameron & Higgins em 1986. São causas atípicas de hemorragia digestiva alta aguda ou crônica por causa do sangramento oculto e constante. Além disso, a presença das úlceras representa uma causa incomum de anemia ferropriva. Essas úlceras aparecem em aproximadamente 5% dos pacientes com hérnia hiatal volumosa submetidos à endoscopia digestiva alta (EDA). Caracterizam-se por lesões lineares crônicas dispostas sobre a mucosa gástrica no nível do hiato diafragmático em pacientes com hérnia de hiato volumosas. Sua patogênese ainda é pouco conhecida, embora a isquemia por compressão diafragmática, o trauma mecânico causado pela pressão abdominal e a lesão da mucosa pela

acidez gástrica sejam estudados como possíveis fatores contribuintes. O diagnóstico por EDA é, na maioria das vezes, acidental, e o tratamento consiste no uso de inibidores de bomba de prótons (IBPs) associado à suplementação de ferro em pacientes com anemia ferropriva. A fundoplicatura por cirurgia laparoscópica ou aberta é o tratamento recomendado em casos refratários ao tratamento medicamentoso ou quando houver sangramento incontrolável. **Relato de caso:** Paciente de sexo feminino de 47 anos, procedente de Recife (PE), recebida no Ambulatório de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFPE em fevereiro de 2012 para investigação de anemia ferropriva. Apresentava fadiga e astenia desde dezembro de 2011, já estava em uso de sulfato ferroso por hipermenorragia e não havia melhoria significativa dos níveis de hemoglobina. Antecedentes pessoais: hipertensão arterial sistêmica, obesidade, asma e laqueadura tubária havia 20 anos. A anemia evoluiu de forma importante e foi refratária ao tratamento inicial com sulfato ferroso. Foi submetida a seis hemotransfusões em um ano. Iniciou-se a investigação da hipermenorragia no serviço de Ginecologia, e foi feita histeroscopia em dezembro de 2012, que evidenciou pólipos endometriais e adenomiose. Iniciou-se a reposição hormonal e, posteriormente, indicou-se a histerectomia para correção da anemia. Apenas nos exames pré-operatórios ao raio X de tórax foi evidenciada uma hérnia hiatal diafragmática. Após um parecer da Gastroenterologia, foi solicitado EDA, que evidenciou uma úlcera de Cameron. A paciente submeteu-se a histerectomia proposta, porém, permaneceu com anemia ferropriva. O tratamento com IBPs para a úlcera de Cameron não foi eficaz, e foi feita então a cirurgia videolaparoscópica para correção da hérnia hiatal e retirada da úlcera. **Discussão:** Tendo em vista a hipermenorragia ser a principal causa de anemia ferropriva em mulheres no climatério, a confirmação etiológica base da anemia não é feita adequadamente na presença da úlcera em questão, que acarreta maiores danos ao paciente por causa do atraso no diagnóstico. **Conclusão:** Como a úlcera de Cameron é uma causa incomum de anemia ferropriva, faz-se necessário um alto índice de suspeição para o correto diagnóstico.

19. A VISÃO ATUAL DAS CRENÇAS E MITOS SOBRE ANEMIA FERROPÊNICA ENTRE DIFERENTES GRUPOS DA POPULAÇÃO DO CAMPUS I DA UNEB

Santos NCD, Gramosa MRDS, Leão VC, Bendicho MT

Universidade Estadual da Bahia (UNEB), Salvador, BA, Brasil

Introdução: Por definição, anemia é a diminuição da hemoglobina total funcionante na circulação. A mais frequente é a anemia ferropênica, presente em todos os países, porém, em maior prevalência nos em desenvolvimento. Segundo estimativa da Organização Panamericana de Saúde, 35% das crianças no Brasil com um a quatro anos encontram-se anêmicas. Nas sociedades, existe um conjunto de saberes baseados no cotidiano, em experiências e observações do meio natural que é transmitido de geração em geração, por meio da oralidade, e que faz parte da tradição cultural de um povo. Um exemplo específico são os remédios caseiros com a finalidade de debelar ou diminuir doenças ou incômodos, ação essa inserida no que se denomina medicina popular. Para a anemia ferropriva, diversas dessas práticas são referidas, como, por exemplo, xarope de beterraba, comer espinafre, cozinhar feijão com pregos etc. São raros os trabalhos sobre o tema e que também identifiquem se a população acredita nessas práticas ou as usa, se consideramos que há diversas formulações medicamentosas e grande apelo publicitário para uso de medicamentos industrializados. **Objetivo:** Identificar se há diferenças quanto ao conhecimento e o uso de práticas não farmacológicas de tratamento da anemia ferropriva entre diferentes grupos do Campus I da UNEB. **Material e métodos:** Mediante o uso de questionário semiestruturado, foram entrevistados 98 estudantes do 1º semestre dos seis cursos de saúde e 57 pessoas que frequentam a UNEB, após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. **Resultados:** Houve diferença nos dois grupos. Os frequentadores da UNEB mostraram ter mais conhecimento dessas práticas populares e acreditam mais nelas. Para os dois grupos, comer beterraba e figado apareceu em destaque. O suco de couve é o terceiro na lista do grupo dos frequentadores da UNEB. Para os estudantes, ele não teve o mesmo destaque e ficou na nona posição. O uso de pregos no cozimento do feijão foi dito como conhecido por 56,2% dos estudantes e 30,3% dos frequentadores da UNEB. Sobre esse mito, foi identificado um estudo publicado no VII Encontro Nacional de Pesquisas em Educação em 2009 que refletiu sobre o conhecimento desses mitos e que, diferentemente

do achado nesses grupos, foi tido como muito conhecido. Quanto ao caráter preventivo ou curativo, os dois grupos apontaram acreditar que atuam na prevenção. **Discussão:** As diferenças encontradas quanto ao conhecimento das diferentes práticas podem ser devidas à faixa etária dos grupos, às condições socioeconômicas, ao acesso a informações e à propaganda de medicamentos, entre outros. **Conclusão:** Os estudantes de saúde precisam conhecer essas diferenças, para respeitar o conhecimento popular e saber melhor atuar junto ao paciente.

20. PREVALÊNCIA DE ANEMIA EM PACIENTES CLÍNICOS INTERNADOS E SUA CORRELAÇÃO COM MORTALIDADE

Luccas PVL, Rossi SB, Luccas LAL, Martins MP, Mauad V, Silva SS, Borducchi DMM

Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

Introdução: Anemia é uma condição clínica bastante comum na população geral e vem sendo associada a pior prognóstico e maior mortalidade em diversas patologias, como insuficiência cardíaca (IC), coronariopatias, doença renal crônica (DRC) e acidente vascular encefálico hemorrágico (AVCh). Na população idosa, anemia está relacionada a pioria de função cognitiva e mobilidade, assim como maior risco de hospitalização e maior mortalidade. Na literatura, há poucos dados sobre prevalência de anemia na população geral. Os estudos são geralmente direcionados a indivíduos com patologias específicas ou à população idosa. Na sexta década de vida, a prevalência de anemia é de aproximadamente 10%, aumenta progressivamente e excede 20% a partir dos 85 anos. Em pacientes internados, a anemia também é muito frequente e chega à prevalência de 65% em unidades de terapia intensiva. **Objetivo:** Avaliar a prevalência de anemia e seu impacto sobre mortalidade nos pacientes internados por razões não oncológicas e demonstrar se existe diferença desse impacto entre pacientes adultos e idosos em hospital terciário do ABC. **Material e métodos:** Foram analisadas, retrospectivamente, todas as pessoas internadas na enfermaria de Clínica Médica de um hospital terciário do ABC de março de 2012 a março de 2014, com resultado total de 562 indivíduos. Esses pacientes foram avaliados quanto a presença do diagnóstico de anemia no momento da internação, idade, sexo e mortalidade. Nos pacientes anêmicos, criaram-se subgrupos com pacientes ≥ 60 anos e com < 60 anos, e analisou-se estatisticamente se houve diferença na mortalidade entre os subgrupos. **Resultados:** Dos 562 pacientes avaliados, 256 eram mulheres e 303 homens, com média de idade de 64,4 anos. Desses, 483 foram investigados quanto a seus índices hematimétricos, e 230 apresentaram anemia. Nos pacientes anêmicos, a média de idade foi de 66,7 anos (DP 16,08). No subgrupo acima de 60 anos, há uma chance 2,5 vezes maior de óbito nos pacientes anêmicos, (RR = 2,518 IC 95% 1,71-3,70), com VPP = 83%, assim como no subgrupo abaixo de 60 anos, em que a mortalidade é 2,8 vezes maior (RR 2,79 IC 95% = 1,39-5,60) e VPP = 89,3%. **Discussão:** A análise dos dados revelou que 40,9% dos pacientes internados na enfermaria de clínica médica eram anêmicos à admissão hospitalar. Desses, 159 tinham ≥ 60 anos, e 71 tinham < 60 anos, o que comprova a tendência de maior prevalência de anemia em idosos. Quando se comparou a mortalidade nos subgrupos analisados, verificou-se que o índice era estatisticamente equivalente nos dois subgrupos, apesar da expectativa inicial de maior mortalidade de nos idosos. Sabe-se que pacientes anêmicos com IC, DRC, AVEh e coronariopatias têm pior prognóstico e que essas comorbidades têm sua prevalência aumentada com o avançar da idade. No entanto, ambos os subgrupos apresentaram mortalidades equivalentes estatisticamente. Desse modo, infere-se que a anemia é um fator prognóstico independente para mortalidade. **Conclusão:** A anemia é, isoladamente, fator prognóstico de mortalidade, independentemente da faixa etária, em pessoas com idade maior do que 20 anos.

21. SÍNDROME DE IMERSLUND GRÄSBECK – RELATO DE DOIS CASOS

Zimmermann D, Cavalcante AJP, Carvalho VE, Cavalcante JL, Araujo AA, Vidolin E, Luporini SM

Hospital Municipal Infantil Menino Jesus, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A síndrome de Imerslund-Gräsbeck é uma doença hereditária rara, de transmissão autossômica recessiva, caracterizada por má absorção seletiva de vitamina B12 e proteinúria assintomática. As ma-

nifestações clínicas surgem geralmente nos dois primeiros anos de vida. Clinicamente são frequentes anemia, deficiente desenvolvimento somático, infecções de repetição e alterações neurológicas. As alterações normalmente regredem após o início do tratamento com administração parenteral contínua de vitamina B12. Mutações em genes da cubilina, da proteína transmembrana tipo I e do fator intrínseco gástrico são responsáveis pela quase totalidade dos casos. **Objetivo:** Enfatizar a importância do diagnóstico precoce dessa entidade pela alta morbidade na ausência de terapia correta, necessidade de triagem e aconselhamento genético dos parentes assintomáticos. **Relatos dos casos:** Caso 1: N.S.S., sete anos, sexo feminino, natural de São Paulo (SP). Deu entrada no pronto-socorro (os) em mau estado geral e com palidez importante. Histórico de episódios diarreicos, vômitos e inapetência havia quatro meses, perda de peso e palidez progressiva havia um mês. Pais consanguíneos de primeiro grau. Apresentava-se em mau estado geral, descorada +3/+4, peso e estatura no 10º percentil e sem outras alterações. Hemograma inicial (E 1,44 x 10⁶/mm³, Hb 4,7 g/dL, Hto 13,6%, VCM 96,7 fL, RDW 20,3%, Leuco 3.700 (neutr 1.170), plaquetas 87.000/mm³); BT 1,35, BI 0,95; DHL 8.325 U/L; transaminases e função renal normais. Mielograma – hiperclular e mudanças megaloblásticas. Dosagens de vitamina B12 = 87 pg/mL (VR 200-982) e ácido fólico = 11 ng/mL (VR 3-17). Recebeu concentrado de hemácias e 5.000 µg de vitamina B12 intramuscular. Evoluiu com melhoria da disposição geral, remissão do quadro dispéptico, normalização do hemograma em quatro semanas e valor sérico de vitamina B12 = 368 pg/mL. Com aplicações de vitamina B12 a cada quatro meses, segue sem alterações clínicas e hematológicas ao longo dos anos. Esofago-estomago-duodenoscopia com biópsia e pesquisa de *H. pylori* normais, e gorduras nas fezes ausentes. Anticorpos antifator intrínseco e anticélulas parietais negativos, e proteinúria de 24 horas de 32,7 mg/dL (NL < 11,9). Caso 2: J.S.S., sexo masculino, irmão do caso 1, com 1,6 ano, avaliado no rastreamento familiar. Transfusão prévia por anemia em pré-operatório por vício de rotação intestinal com 1,3 ano. Primeira consulta: palidez cutânea, descorado 1+/4+, peso e estatura no 10º percentil e sem outras alterações. Hemograma (E 3x10⁶/mm³, Hb 9 g/dL, Ht 27%, VCM 90 fL, HCM 30,7 pg, RDW 34,1%, Leuco 3.600/mm³ – neutr 972/mm³, plaquetas 89.000/mm³), ácido fólico 7,25 ng/mL, vitamina B12 110 pg/mL, DHL 2.720 U/L, transaminases e função renal normais. Mielograma hiperclular e mudança megaloblástica. Recebeu 5.000 µg de vitamina B12 intramuscular, com normalização do hemograma em oito semanas e valor sérico de vitamina B12 368 pg/mL. Segue sem alterações clínicas e hematológicas, com aplicações de vitamina B12 a cada quatro meses. Esofago-estomago-duodenoscopia com biópsia e pesquisa de *H. pylori* normais e ausência de gorduras nas fezes. Anticorpos antifator intrínseco e anticélulas parietais negativos, proteinúria de 24 horas de 43,1 mg/dL (NL < 11,9). **Conclusão:** A presença de anemia megaloblástica na infância deve sempre ser acompanhada de investigação de proteinúria, pois permite suspeitar dessa rara síndrome de simples tratamento, porém de elevada morbidade.

22. B VITAMIN LEVELS AND RNA EXPRESSION OF DHFR IN PATIENTS WITH DIFFERENT DEGREES OF ERYTHROPOIESIS

Paniz C^a, Lucena MR^{a,b}, Bertinato JF^a, Amorim PMS^a, Figueiredo MS^b, Sonati MF^c, Blaia-D'Avila VL^d, Cancado RD^e, Domingos CRB^f, Guerra-Shinohara EM^{a,b}

^a Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Divisão de Hematologia e Transfusão de Sangue, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^c Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^d Divisão de Hematologia, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde (FCMS), Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), Sorocaba, SP, Brazil

^e Departamento de Oncologia e Hematologia, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo (FCMSCSP), São Paulo, SP, Brazil

^f Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brazil

Background: Hereditary spherocytosis (HS) is a common and inherited red cell disorder characterized by a defect or deficiency in one or more proteins of the red blood cell membrane. This condition leads to premature destruction of red blood cells in the spleen and causes hemolytic anemia. Thus, HS patients present higher erythropoiesis, with an increase in cell duplication rate, and they need higher concentrations

of folic acid (FA) and cobalamin. To offset the higher erythropoiesis (HS), these patients are usually treated with 5 mg/day of folic acid (FA), the most common formulation available in Brazil. β -thalassemia syndromes are inherited disorders caused by the deficiency of β -globin synthesis. β -thalassemia heterozygote (β -TH) subjects are asymptomatic or present milder clinical alterations, including anemia. Although presenting higher erythropoiesis, the cell duplication rate in this group is lower than in HS patients. However, β -TH subjects could also present increase in FA and cobalamin demand, and some of them use FA supplementation, according to individual clinical features. Synthetic FA from supplementation must be reduced by the dihydrofolate reductase (DHFR) enzyme in order to be included in the folate cellular pool. Effects of large amounts of FA, in its synthetic form, on serum FA and cobalamin, and on mRNA expression of the DHFR gene are unknown. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the serum folate and cobalamin levels and mRNA expression of DHFR in patients with different degrees of erythropoiesis compared with healthy controls. **Material and methods:** Twenty-three patients with HS and 45 β -TH subjects, both groups either using or not using 5 mg/day of FA, were included in this study. Ninety-four healthy individuals were recruited as a control group, and matched with HS patients according to age, gender, body mass index (BMI), and self-reported skin color (SC). Blood count, including reticulocytes, C-reactive protein, and lactic dehydrogenase (LDH) were performed. Serum folate (SF) and cobalamin were determined by a microbiological method. The mRNA expression of DHFR gene in mononuclear cells was performed in duplicate, using real-time PCR. **Results:** Seventy percent (n = 16) of HS patients, 18% (n = 8) of β -TH subjects, and none of the control subjects were using 5 mg of FA everyday as supplementation. The HS group, who have higher erythropoiesis and were using FA treatment, presented higher SF levels and mRNA expression of DHFR when compared with controls (p < 0.05). No difference was found between serum folate and DHFR mRNA expression in the β -TH subjects and controls. The cobalamin levels were similar in three groups. **Conclusions:** The partial results of our study suggest that elevated DHFR mRNA expression in HS patients appears to be associated with increased folic acid levels, or might be due to increased erythropoiesis. **Funding:** FAPESP 2012/12912-1 and CNPq 4826412012-6.

23. IRON AND FOLIC ACID STATUS IN β -THALASSEMIA HETEROZYGOTE SUBJECTS AFTER FLOUR FORTIFICATION IN BRAZIL

Bertinato JF^a, Amorim PMS^a, Carli E^b, Figueiredo MS^c, Colli C^b, Sonati MF^d, Santos MNND^d, Blaia-D'Avila VL^e, Cancado RD^f, Guerra-Shinohara EM^{a,c}

^a Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^c Divisão de Hematologia e Transfusão de Sangue, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^d Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^e Divisão de Hematologia, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde (FCMS), Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), Sorocaba, SP, Brazil

^f Departamento de Oncologia e Hematologia, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo (FCMSCSP), São Paulo, SP, Brazil

Background: β -thalassemia syndromes are inherited disorders caused by the deficiency of β -globin synthesis. Carriers of this disorder exhibit a wide range in clinical manifestations, from asymptomatic to severe disease, requiring frequent blood transfusion. Patients with homozygous β -thalassemia have alterations in iron status and often present iron overload due to changes in iron metabolism, as well as due to blood transfusions. However, most heterozygous β -thalassemia (β -TH) patients are asymptomatic or present milder clinical alterations, including anemia and microcytosis. The therapeutic use of folic acid as well as iron supplements by β -TH subjects is not common, and it is dependent on individual clinical features. In 2004, Brazil started a program of mandatory wheat and corn flour fortification, with 4.2 mg of iron and 150 µg of folic acid (FA)/100g of flour. Some β -TH subjects could

present higher erythropoiesis rates, which could increase the iron and FA demand. Nevertheless, the serum levels of these nutrients in β -TH subjects after the mandatory flour fortification are unknown. **Objective:** The aim of this study was to evaluate iron status and serum folic acid levels in β -thalassemia heterozygous subjects ten years after mandatory wheat and corn flour fortification in Brazil. **Material and methods:** Thirty-six β -TH subjects exposed to mandatory fortification were included in this study. Forty-four healthy people were recruited for the control group, which was matched with β -thalassemia subjects according to age, gender, body mass index, and self-reported skin color. The blood cells count, serum iron, serum ferritin (SF), and total iron binding capacity (TIBC) were determined with commercial kits. Transferrin saturation (TS) was calculated. Serum folate (SFol) levels were determined by microbiological assay. **Results:** Twenty-three percent of the healthy group (nine women and one man) and 8.3% of β -TH patients (two women and one man) had TS < 20%. No difference was observed between the frequencies of iron deficiency (TS < 20%) in β -TH and control groups. Regarding SF levels, 4.5% (n = 2) of the healthy group and 8.3% (n = 3) of the β -TH patients had values < 20 μ g/L, and no difference was observed between the frequencies in two groups (p = 0.653). Only three women had TS > 50%, 5.5% (n = 2) of the β -TH patients and 2.2% (n = 1) of the controls; none of the men had iron overload (TS > 60%). Furthermore, the β -TH group showed lower TIBC and higher ferritin levels when compared to controls. The two groups were similar according to SFol levels and frequencies of folate deficiency. Interestingly, 34.1% (n = 15) of the control group and 27.8% (n = 10) of β -TH group had low SFol (< 13.6 nmol/L). Supraphysiological folate status (SFol > 45 nmol/L) was found in 11.1% (n = 5) of controls and 25.0% (n = 9) of β -TH patients (p = 0.110). **Conclusions:** After 10 years of wheat and corn flour fortification with iron and FA, about 30% of this sample presented folate deficiency, while 36.4% had supraphysiological folate levels. Iron deficiency seems less frequent when compared with folate deficiency in both groups. **Funding:** FAPESP 2012/12912-1 and CNPq 4826412012-6.

24. DELETION OF 19BP IN DHFR GENE WAS NOT ASSOCIATED WITH ALTERATION ON DHFR RNA EXPRESSION

Lucena MR^{a,b}, Paniz C^b, Bertinato JF^b, Amorim PMS^b, Costa PLB^b, Bertanha ML^b, Figueiredo MS^a, Guerra-Shinohara EM^{a,b}

^a Divisão de Hematologia e Transfusão de Sangue, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^b Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Background: Folic Acid (FA) plays important functions in the cells, such as nucleic acids synthesis and methylation reactions. Several important enzymes participate in folate metabolism, including dihydrofolate reductase (DHFR). This enzyme is essential to the incorporation of FA from fortification and supplementation, which is a more oxidized form than natural ones. DHFR reduces FA to dihydrofolate (DHF), and then to tetrahydrofolate (THF), thus allowing the entry of FA into the active cellular pool of folate. In Brazil, people have been exposed to food fortification (wheat and corn flours) with 150 μ g of FA/100g of flour since 2004. Thus, DHFR could be saturated by increased intake of FA. The deletion of 19 base pairs (bp) in the DHFR gene was associated with alteration in gene regulation. Furthermore, this genetic deletion could influence FA metabolism when there is dietary folate deficiency, and also when this vitamin is ingested in very high amounts. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the association between deletion of 19 bp in the DHFR gene and expression of DHFR mRNA in healthy subjects. **Methods:** Ninety-four healthy subjects exposed to mandatory wheat and corn flours fortification with FA, and without use of FA supplements, were included in this study. Serum folate (SF) and vitamin B12 were determined by a microbiological method. The mRNA expression of DHFR in mononuclear cells was performed in duplicate, using real-time PCR. **Results:** The median and quartile values (P25 and P75) of age were 35.5 (28.0 – 51.3) years. The majority were female (70.2%, n = 66). The genotypes for DHFR 19 bp were: 24.5% (n = 23) wild-type, 48.9% (n = 46) heterozygous, and 26.6% (n = 25) homozygous. The values of expression of DHFR mRNA were not consistent with a normal distribution and were transformed in a logarithmic scale for the statistical analysis. In the ANCOVA model, the values of mRNA expression, calculated with

the log-transformed, were not associated with gender (p = 0.508), or with genotypes for deletion in DHFR gene (p = 0.504) and no interaction was found between gender and deletion (p = 0.380). **Conclusions:** The deletion of 19bp was not associated with mRNA expression of the DHFR gene in healthy subjects. The measurement of DHFR activity is needed to confirm this finding. **Funding:** FAPESP 2012/12912-1 and CNPq 4826412012-6.

25. ANÁLISE DA MUTAÇÃO C282Y E FREQUÊNCIA ALÉLICA DO GENE DA PROTEÍNA HFE EM PACIENTES COM HIPERFERRITINEMIA

Oliveira LOS, Aquino CE, Oliveira JC, Marinho MJM, Pereira WO

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), Natal, RN, Brasil

Introdução: A hemocromatose hereditária (HH) é uma doença de cunho genético, na qual uma mutação no gene HFE localizado no braço curto do cromossomo 6 codificador de uma proteína regulatória altera a absorção e deposição de ferro, e há consequente excesso desse composto no organismo. Esse excesso resulta em várias complicações clínicas, como escurecimento da pele, cirrose, cardiopatias, artrite, desordens sexuais e diabetes. E embora os sintomas da doença sejam frequentemente inespecíficos, muitos dos danos aos órgãos são irreversíveis uma vez que tenham ocorrido. A HH é uma das doenças genéticas mais prevalentes entre os brancos, com uma faixa de acometimento de 1:300. A mutação C282Y consiste de uma troca de uma guanina por uma adenosina na posição 845 do gene, com consequente substituição de uma cisteína por uma tirosina na posição 282 do polipeptídeo sintetizado. Essa, além de outras mutações, está bem definida na etiologia da HH. **Objetivo:** Identificar a mutação C282Y no gene HFE e a frequência alélica desse gene em pacientes com hiperferritinemia persistente atendidos no Centro de Oncologia e Hematologia de Mossoró (RN). **Material e métodos:** As delimitações e o começo do estudo só ocorreram após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (CEP/UERN, nº 463.142). Foram selecionados 20 sujeitos saudáveis, de ambos os sexos, com níveis de ferritina sérica dentro dos limites normais da Faculdade de Ciências da Saúde (FACS). No grupo em teste, amostras de sangue periférico (SP) de 37 pacientes com hiperferritinemia foram estudadas. O principal critério de inclusão foi o nível elevado da ferritina sérica em indivíduos maiores de 18 anos, de ambos os sexos. E os de exclusão foram a presença de anemia hemolítica, talassemias e transfusão sanguínea prévia recente (< 3 anos). Os exames concernentes à ferritina foram feitos na máquina A15, com os reagentes fornecidos pela Biosystems. A RT-PCR foi efetuada no DNA extraído a fim de detectar a mutação. **Resultados:** O grupo controle não apresentou a mutação C282Y e, dos 37 pacientes estudados, 91,9% apresentaram ausência da mutação e 8,1% mostraram alguma mutação: heterozigose da mutação C282Y em 5,4% dos pacientes estudados e homozigose da mutação C282Y em 2,7%. Observou-se também que os pacientes homozigotos apresentavam níveis séricos de ferritina mais baixos do que os pacientes que não apresentavam mutação. **Conclusão:** Por causa da alta prevalência da HH e de seu tratamento simples, eficaz e de baixo custo, o diagnóstico molecular da HH torna-se uma importante ajuda no controle das complicações advindas da doença, principalmente em grupos de risco.

26. IDENTIFICAÇÃO DO CONHECIMENTO DAS GESTANTES SOBRE A ANEMIA FERROPÊNICA

Gramosa MRDS, Santos NCD, Leão VC, Bendicho MT

Universidade Estadual da Bahia (UNEB), Salvador, BA, Brasil

Introdução: A gestação normal está associada a ajustes fisiológicos e anatômicos que ocorrem por todo o período gestacional e até o término da lactação. Entre esses, está a hemodiluição e a consequente anemia fisiológica da gravidez. Já a anemia não fisiológica acomete cerca de 20% a 80% das gestações. A ferropênica é a desordem nutricional mais comum. Cerca de 40% das mortes de gestantes e recém-nascidos estão ligadas a anemia. Até os seis meses, o leite materno supre as necessidades nutricionais e protege a criança de doenças nessa fase. O leite tem baixa reserva de ferro, porém, é altamente biodisponível. Seu teor de caseína facilita a digestão, em relação ao leite de vaca, daí sua vantagem. Independentemente das causas, a anemia pode levar a prejuízos para o desenvolvimento cognitivo e motor da criança e para o seu posterior aproveitamento escolar. Daí ser importante a participação das gestantes

em atividades que esclareçam e orientem sobre a prevenção e tratamento de anemia. **Objetivo:** Identificar as necessidades reais de conhecimento de gestantes que frequentam o Campus I da UNEB e seus arredores, para, assim, planejar estratégias de educação em saúde tendo como tema a anemia. **Material e métodos:** As gestantes do Campus I da UNEB e redondezas foram convidadas a participar, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e responderam a um questionário com questões sobre anemia. Participaram 31 gestantes, entre 18 e 43 anos, com dois a nove meses de gestação, de diferentes profissões e graus de escolaridade. **Resultados:** Todas as gestantes referiram conhecer a anemia, mas apenas 6% souberam dar uma ideia do que é. Para as outras perguntas sobre a influência de hábitos de higiene, alimentação e verminoses no aparecimento ou agravamento da anemia, 75% das respostas foram equivocadas, ditas desconhecidas ou não respondidas. Ao questionamento sobre grupos de pessoas que têm mais chances de ter anemia, 26% identificaram a gestante como sendo um grupo de risco. **Conclusão:** Esses dados apontam para a ausência de informações que podem contribuir para a prevenção ou menor gravidade da anemia.

27. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS DOS PACIENTES ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DE HEMATOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL

Peixoto SL, Peixoto JL, Haas AC

Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

Introdução: As doenças hematológicas constituem uma importante causa de adoecimento no mundo. Por esse motivo, o conhecimento do perfil epidemiológico local é importante para uma melhor aplicabilidade das práticas médicas, assim como para conhecer a demanda ambulatorial e haver um melhor planejamento em saúde. **Objetivo:** Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes acompanhados de 2009 a 2013 no ambulatório de Hematologia de uma universidade do interior do Estado do Rio Grande do Sul. **Material e métodos:** Estudo descritivo, transversal, retrospectivo. As variáveis analisadas foram motivo da consulta, sexo, faixa etária e comorbidades. As variáveis categóricas foram expressas em porcentagens do total, e as contínuas, em médias e desvios padrão. Os dados foram colhidos de fevereiro a julho de 2014. **Resultados:** Foram avaliados prontuários de 324 pacientes. A média de idade foi de $42,81 \pm 26,6$ anos. Do total, 178 pacientes eram do sexo feminino (54,9%), 121 (37,3%) consultaram por anemia e, desses, 94 apresentaram o diagnóstico de anemia ferropriva: 17 por deficiência de vitamina B12, cinco por deficiência de ácido fólico e cinco por hemoglobinopatia. Desses, três eram anemia falciforme, e dois, talassemia menor. Do total de pacientes: 46 (14,2%) apresentaram distúrbio da série branca, e os mais comuns foram leucocitose e leucopenia como motivo de consulta; 34 (10,5%) consultaram por ferritina elevada e, desses, 24 apresentaram diagnóstico de hemocromatose; 11 (3,4%) consultaram por púrpura trombocitopênica idiopática; 10 (3%) consultaram por distúrbios de coagulação e, desses, 2,2% apresentaram trombofilias. Nove pacientes (2,8%) consultaram por síndrome mielodisplásica. Dos pacientes atendidos no ambulatório, 86 (26,5%) eram de faixa etária pediátrica. Entre as crianças, a principal causa de consulta foi anemia ferropriva, em 51 casos. Entre os pacientes analisados, 199 (61,4%) apresentaram comorbidades e, entre as mais prevalentes, estavam *diabetes mellitus* e hipertensão arterial sistêmica, em 101 casos. Verificou-se que as doenças mais prevalentes foram as anemias, na maioria dos casos ferropriva. Observou-se também a presença de grande número de consultas pediátricas por causa de anemia ferropriva em tratamento em ambulatório especializado. **Conclusão:** Tais achados reforçam a importância desse tipo de anemia como problema de saúde pública e sugerem que novos estudos locais são necessários, a fim de compreender suas peculiaridades regionais, causas e dificuldades para o manejo inicial por médicos generalistas.

28. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM LONGEVOS

Moraes NS^a, Cendoroglo MS^a, Shinohara EMG^b, Mecabo G^a, Carneiro TX^a, Biassi TP^a, Silva AMF^a, Tommaso ABGD^a, Figueiredo MS^a

^a Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Embora anemia seja frequente em idosos, não é considerada a consequência normal do envelhecimento. Isso porque, mesmo em grau leve, se correlaciona com declínio funcional e cognitivo, comorbidades, hospitalização e mortalidade. Sua prevalência em idosos varia de acordo com os critérios diagnósticos usados, tema ainda controverso e alvo de grandes discussões. **Objetivo:** Estudar os parâmetros hematológicos em longevos. **Material e métodos:** Estudo transversal, por coleta de dados clínico-laboratoriais de participantes do Projeto Longevos, de abril de 2010 a dezembro de 2013. Incluídos idosos com 80 anos ou mais, com comorbidades compensadas, independentes para deambular. Foram excluídos idosos com demência; déficit visual ou auditivo limitantes; doença aguda grave ou crônica descompensada; hospitalização nos últimos três meses; em diálise, quimioterapia ou radioterapia, ou residentes em instituição de longa permanência. Anemia foi definida segundo critérios da OMS: hemoglobina (Hb) < 12 g/dL para mulheres e < 13 g/dL para homens. Foi considerada ferropenia ferritina < 23,9 ng/mL em homens e < 11 ng/mL em mulheres. Vitamina B12 < 200 pg/mL e folato < 13,6 nMol/L definiram deficiência dessas vitaminas. O clearance de creatinina (ClCr) foi estimado por meio da equação de Cockcroft Gault. Avaliados 254 longevos, idade mediana de 85 anos (80-99), com 70,4% de mulheres. A mediana de Hb foi maior em homens do que em mulheres (13,7 g/dL e 13,2 g/dL, respectivamente; $p = 0,001$). **Resultados:** Anemia foi encontrada em 14,9% dos idosos e foi mais frequente em homens do que em mulheres (25,3% e 10,6%, respectivamente; $p < 0,001$). Quanto à etiologia, 21% apresentavam ferropenia, 7,8% deficiência de folato, 2,6% deficiência de vitamina B12, 2,6% associação de deficiência de ferro e folato e 26,3% doença renal crônica (DRC, ClCr < 10 mL/min). A etiologia da anemia não foi definida em 39,4% dos casos. Entretanto, 44% dos longevos com anemia apresentavam ClCr de 11-50 mL/min e 38,4%, de 51-66 mL/min. Macrocitose foi observada em 5,1% do total de indivíduos analisados. Apenas 1,5% desses apresentavam anemia. Deficiência de B12/ácido fólico ou aumento de desidrogenase láctica não foi observado nos longevos com anemia macrocítica. Microcitose foi encontrada em 3,5% dos idosos estudados, e apenas 1,9% apresentava anemia associada. Dos cinco pacientes com anemia microcítica, três não apresentavam deficiência identificada. Apesar de a ferropenia ter sido evidenciada em 16 indivíduos (6,2%), apenas nove preenchiam os critérios para diagnóstico de anemia pela OMS. **Discussão:** A real importância desses achados necessita ser mais bem determinada, pois embora saibamos que anemia é complicação comum na DRC, sua evolução ao longo da instalação da DRC é pouco compreendida, e existe grande discussão sobre o diagnóstico de DRC em idosos. **Conclusão:** Na análise de uma população de longevos brasileiros funcionalmente ativos observou-se prevalência de anemia de 14,9%. Causa carencial foi identificada em 34,2% daqueles com anemia, e a etiologia da anemia não foi definida em 39,4% dos casos. Essa análise mostra a importância da investigação etiológica detalhada da anemia em idosos e ressalta a necessidade de um melhor esclarecimento dos parâmetros diagnósticos nestes indivíduos. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, nº 11/12.753.

29. CONHECENDO O PERFIL DO DOADOR DE SANGUE DIAGNOSTICADO COM TRAÇO FALCIFORME QUE COMPARECERAM AO HEMOCENTRO COORDENADOR PARA ORIENTAÇÃO GENÉTICA EM 2013

Souza AS^a, Araújo MDC^a, Santana MP^a, Moura DS^b, Escorcio AAR^b, Santos LMB^b, Medeiros GIS^b, Paiva SSC^b

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Piauí (HEMOPI), Teresina, PI, Brasil

^b Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Teresina, PI, Brasil

Introdução: A doença falciforme é uma das doenças hereditárias mais comuns no Brasil. É causada por uma modificação (mutação) no gene (DNA), que, em vez de produzir a hemoglobina A, produz uma hemoglobina chamada S. Se uma pessoa receber de um dos pais o gene para hemoglobina S e, do outro, o gene para hemoglobina A, não terá a doença, e sim o traço falciforme/TF (AS). O perfil genotípico mais comum é o HbAS, e estima-se que haja mais de dois milhões de portadores dessa característica. Portanto, devem ser assegurados ao portador do traço e a seus parentes a orientação e o aconselhamento genético de caráter assistencial e preventivo. **Objetivo:** Analisar o perfil dos doadores de sangue com TF que receberam orientação genética no hemocentro coordenador. **Material e métodos:** Foram 518 doadores. Usou-se o banco

de dados do HEMOPI, o Hemovida, para identificá-los, e foram enviadas cartas a todos. Como base para orientação, usou-se o Manual de Informação e Orientação Genética em Herança Falciforme do Ministério da Saúde/2011. Nessa conjuntura, usaram-se as seguintes abordagens: herança genética, hemoglobina e suas alterações, transmissão e probabilidades e explicações sobre o TF. Ofereceu-se pesquisa em parentes. Dos doadores, 290 (55,9%) foram do sexo masculino e 228 do feminino (44,1%). **Resultados:** Entre os doadores, a maior prevalência do TF ocorreu na etnia parda, com proporção de 63,9% (n = 331), e na faixa de 20 a 39 anos, com 69,3% (n = 359). Prevalenceu a hemoglobina S, com 85,9% (n = 445). A maioria dos doadores, 83,8% (n = 434) era procedente do Piauí, e 10,8% (n = 56), do Maranhão. Desses, 77,8% (n = 403) residem em Teresina, 12,7% (n = 66) e 9,5% (n = 49) no Maranhão. Quanto ao grau de escolaridade, 62% (n = 321) têm ensino médio, 21,4% (n = 111) ensino superior e 16,6% (n = 86) fundamental. Entre as profissões, destacam-se 18,7% (n = 97) estudantes, 6,8% (n = 35) funcionários públicos e 6,2% (n = 32) do lar. Observou-se que 64,3% (n = 333) dos doadores eram solteiros, enquanto 33,8% (n = 175) eram casados. Com relação ao conhecimento sobre o TF, 90% (n = 466) afirmaram nunca ter ouvido falar, enquanto 10% (n = 52) afirmaram conhecer a presença de casos na família, fato que corrobora a necessidade de políticas de esclarecimento sobre a doença falciforme, dada sua tão elevada prevalência. **Conclusão:** A orientação genética em doadores de sangue portadores do TF, além de possibilitar a pesquisa em parentes, constitui uma importante ferramenta no esclarecimento dos doadores quanto ao seu diagnóstico e possibilita a tomada de decisões conscientes a respeito da procriação.

30. ANEMIA FERROPRIVA EM IDOSO POR INFESTAÇÃO MASSIVA POR ANCYLOSTOMA DUODENALE DESCOBERTA POR ENDOSCOPIA COLONOSCÓPICA – RELATO DE CASO

Hokama NK, Hokama POM, Yamashiro F

Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Infestação por helmintos é uma das alterações mais prevalentes mundialmente, especialmente em países do terceiro mundo e dos trópicos. Embora a maioria seja assintomática, os casos com infestação maciça podem resultar em quadros anêmicos graves, secundários à ferrodeficiência ocasionada pelos parasitas. Apesar da alta prevalência no Brasil das duas situações, anemia ferropriva e verminoses, existem poucos dados recentes publicados. Em 2007, Brooker demonstrou alta prevalência de infestação por *Necator americanus* no Brasil, em população de Minas Gerais, principalmente em crianças e idosos. Outros estudos posteriores confirmam a manutenção da prevalência alta de infestação pelos nematódeos, apesar dos avanços sanitários nas últimas décadas. A prevalência de anemia ferropriva nos idosos é alta e uma das causas principais de anemia. Nesses pacientes, a investigação de doenças do tubo digestivo, por meio de endoscopia e colonoscopia, é obrigatória, principalmente com o objetivo de diagnosticar neoplasias. Embora frequentemente se considere a possibilidade de verminoses nos pacientes com anemia ferropriva, principalmente em crianças e jovens, não temos em nossa rotina a pesquisa de parasitas em fezes em pacientes idosos, tendo em vista a prioridade de descartar neoplasias gastrointestinais. **Objetivo:** Relatar o caso de paciente idoso cujo diagnóstico de anemia ferropriva por infestação maciça por ancilostomose foi feito por investigação endoscópica colonoscópica. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 73 anos, foi encaminhado para o pronto-socorro da nossa instituição para avaliação de quadro de anemia microcítica e hipocrômica, com Hb = 7,9 g/dL. Contava quadro de fraqueza havia seis meses e emagrecimento de 7 kg. Referia alimentação balanceada, com ingestão diária de carnes, verduras, legumes e frutas. Na época, foi submetido a avaliação de medula óssea, em decorrência de achado concomitante de linfocitopenia, que foi sugestivo de hemopatia megaloblástica. Foi receitado uso de ferro endovenoso. Retornou ao serviço dois meses depois, com pioria importante dos níveis de hemoglobina (Hb = 4,7 g/dL), e foi transfundido, com melhoria clínica. Foi encaminhado para investigação endoscópica, que revelou gastrite enantematosa de corpo, fundo e antro em endoscopia digestiva alta; porém, as biópsias de corpo, fundo e antro estavam dentro dos padrões de normalidade, com pesquisa para *Helicobacter pylori* negativa. Na colonoscopia, foi observada em região de íleo terminal infestação maciça de parasitas e fezes em aspecto de melena, sem outras alterações em cólons. Exame

parasitológico de fezes confirmou a presença de ovos de *Ancylostoma duodenalis*. O paciente recebeu anti-helmínticos e ferroterapia oral, com normalização dos parâmetros hematológicos. **Conclusão:** Testes para detecção de parasitas intestinais devem ser solicitados em rotina de investigação de anemia ferropriva em indivíduos idosos, em conjunto com investigação de outras doenças gastrointestinais. Em parte significativa dos pacientes idosos submetidos à investigação gastrointestinal, não se esclarece a causa do sangramento gastrointestinal. É possível que uma parcela desses pacientes tenha como causa contribuinte ou principal a espoliação de ferro por infestação por helmintos.

31. AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA AUDITIVA NEUROSENSORIAL EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME ACOMPANHADOS NO AMBULATÓRIO DE HEMATOLOGIA DA FCMS-PUCSP/CHS

Lucena RV, Silva AF, Negri KC, Silva CL, Cliquet MG, Davila VLNB, Borges GC, Júnior JJJ

Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde (FCMS), Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: A doença falciforme (DF) engloba um grupo de anemias hemolíticas hereditárias caracterizadas por grande variabilidade clínica e crises vaso-oclusivas (CVO), que resultam da obstrução dos vasos sanguíneos por hemácias falciformes. Estudos sugerem que pacientes com DF têm um risco aumentado de desenvolver deficiência auditiva neurosensorial (DANS) por causa da hipóxia nos órgãos de Corti causada pelas CVO. **Objetivo:** Avaliar a DANS em pacientes diagnosticados com DF acompanhados no Ambulatório de Hematologia do CHS/FCMS/PUC-SP e correlacionar os achados com o tipo de hemoglobinopatia. **Material e métodos:** Foram incluídos no estudo 19 pacientes com diagnóstico de DF, 68% pertencentes ao subtipo SS, 16% à forma variante SC e 16% à S-Beta-talassemia. Em cada paciente, foram feitas a anamnese direcionada, o exame físico otorrinolaringológico e as audiometrias tonal e vocal, os limiares auditivos, o índice de reconhecimento de fala e a imitanciometria. **Resultados:** Na avaliação inicial, 21% dos pacientes queixaram-se de hipoacusia uni ou bilateral, 5% de vertigem, 5% de zumbido, 5% de otalgia e 5% de plenitude auricular. História de perda auditiva familiar foi encontrada em 21% dos pacientes, e a exposição prolongada a ruídos foi afirmada por 16%. A otoscopia evidenciou 94% das membranas timpânicas como íntegras e brilhantes e 6% com timpanoesclerose. Dos pacientes, 26% apresentaram DANS acima de 30 dB, inclusive em pelo menos uma frequência. Não foi encontrada alteração do índice de reconhecimento de fala. Na imitanciometria, 84% apresentaram curvas tipo A bilateralmente, 5% curvas tipo B bilateralmente, 5% curva tipo B à direita somente e 5% curva C à direita somente. A relação do tipo de hemoglobinopatia e a presença ou não de DANS não foram significantes (p = 0,1548). **Conclusão:** Assim como descrito na literatura, pôde ser observada neste estudo a presença de DANS nos portadores de DF avaliados e, portanto, conclui-se que é de extrema importância o monitoramento audiológico desses pacientes.

DOENÇAS DA SÉRIE VERMELHA: ANEMIAS HEMOLÍTICAS

32. PERFIL IMUNOFENOTÍPICO ERITROCITÁRIO DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO PIAUÍ

Sabino EB^a, Rodrigues AMX^b, Barbosa ML^b, Carvalho FDPC^b, Nascimento CJC^a, Cerqueira MAF^a, Lopes LS^a

^a Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI, Brasil

^b Faculdade Maurício de Nassau, Recife, PE, Brasil

Introdução: A hemoterapia é a especialidade que trata da preparação, indicação e aplicação dos produtos obtidos do sangue para o tratamento de diversas doenças, entre elas a anemia falciforme. Nenhuma transfu-

são é 100% segura, e os pacientes estão sujeitos a riscos, como contaminação dos hemocomponentes, aloimunização e infecções por agentes transmissíveis pelo sangue. A imunofenotipagem atenua a taxa de aloimunização. **Objetivo:** Identificar os principais fenótipos presentes nos indivíduos do estudo, discriminar os aloanticorpos e correlacioná-los com o número de transfusões recebidas em 2012. **Material e métodos:** A pesquisa foi feita no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí (HEMOPI), por meio da coleta de dados pelo Sistema de Informação Hemovida. A amostra da pesquisa incluiu 33 pacientes que foram diagnosticados com anemia falciforme e que fizeram tratamento no HEMOPI em 2012. **Resultados:** Os principais fenótipos encontrados nos indivíduos do estudo foram o grupo sanguíneo A/Rh(D) positivo, R₁r e R₀r. Os principais anticorpos envolvidos na aloimunização foram os pertencentes ao sistema Rh (Anti-E e Anti-C) e Kell (Anti-K). A taxa de aloimunização encontrada foi de 41,55%. A média de transfusões entre aloimunizados foi de cinco. **Conclusão:** Este trabalho demonstrou a importância da fenotipagem dos sistemas sanguíneos em pacientes com anemia falciforme e a relevância dela para reduzir a taxa de aloimunização nos pacientes. **Palavras-chave:** Anemia falciforme; imunofenotipagem; aloimunização.

33. INFLUÊNCIA DA PRESENÇA DO POLIMORFISMO GSTP1 DA GLUTATIONA S-TRANSFERASE (GST) NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA GST TOTAL EM PESSOAS COM ANEMIA FALCIFORME

Oliveira RG^a, Silva DHG^a, Barberino WM^a, Belini-Júnior E^a, Torres LS^a, Okumura JV^a, Lobo CLC^b, Domingos CRB^a

^a Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma anemia hemolítica hereditária, causada por mutação circunstancial, que acarreta ao portador manifestações clínicas complexas e diversificadas. Durante todo o processo fisiopatológico da doença, espécies reativas de oxigênio (ERO) são geradas e podem promover a oxidação de lipídeos, proteínas e DNA, modificar mecanismos celulares e, consequentemente, causar danos aos tecidos. A glutatona S-transferase (GST) é uma família de enzimas que participam dos processos de detoxificação de fase II e catalisam a conjugação da molécula de glutatona reduzida (GSH) a compostos endo e xenobióticos. Dessa maneira, têm papel fundamental nos mecanismos de defesa antioxidante e contribuem para a diminuição do estresse oxidativo nesses indivíduos. Dentre os polimorfismos descritos para a família da GST, a mutação circunstancial no gene GSTP1 tem sido extensamente estudada e associada a predisposição a diversos tipos de doenças e a algumas complicações clínicas. **Objetivo:** Avaliar a influência do polimorfismo GSTP1 da GST na atividade da GST total em pessoas que vivem com AF e a sua influência na resposta a medicação específica (hidroxiureia – HU) por meio da avaliação da atividade enzimática da GST total. **Material e métodos:** A casuística constituiu de 75 amostras de sangue de pessoas com AF, com genótipo confirmado por biologia molecular e avaliadas em relação à presença do polimorfismo GSTP1, por meio de PCR-RFLP, com a enzima BsmI. A análise da atividade enzimática da GST total foi obtida por meio de método colorimétrico. As comparações estatísticas foram feitas entre os grupos de estudo: 17 amostras de indivíduos com o genótipo homocigoto mutante (VV). Dessas, 10 indivíduos faziam uso de HU (VVHU+) e sete não usavam (VVHU-). O grupo controle foi constituído de 58 amostras de sangue de indivíduos com o genótipo normal (II), dos quais 24 usavam HU (IIHU+) e 34 que não usavam (IIHU-). O teste estatístico usado foi a Anova one-way, seguido de post hoc de Fisher. **Resultados:** Foi observado que as amostras do grupo IIHU+ apresentaram atividade enzimática da GST aproximadamente 1,41 vez maior do que as amostras do grupo VVHU+ (p = 0,0014). Além disso, houve diferença significativa entre os grupos IIHU- e VVHU+. As amostras do grupo IIHU- apresentaram atividade enzimática 1,31 vez maior do que o grupo VVHU+ (p = 0,004). **Conclusão:** Na anemia falciforme, a presença do polimorfismo GSTP1 não é um fator que predispõe o indivíduo a resposta diferenciada à terapia com hidroxiureia, mas resulta em diminuição da atividade enzimática total da glutatona S-transferase (GST). Isso mostra que a classe pi dessas enzimas (GSTP1) tem importante representatividade nos processos de defesa antioxidante desses indivíduos.

34. SEQUESTRO ESPLÊNICO NA DOENÇA FALCIFORME SC E HERANÇA DO POLIMORFISMO -308G > A (TNFA)

Torres LS^a, Okumura JV^a, Silva DGH^a, Belini-Júnior E^a, Oliveira RG^a, Teixeira VU^a, Lobo CLC^b, Bonini-Domingos CR^a

^a Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: O sequestro esplênico na doença falciforme corresponde à segunda causa de morte na primeira década de vida. Sua maior incidência é em crianças, especialmente aquelas homocigotas para a hemoglobina (Hb) S, e a recorrência é frequente. No entanto, sua ocorrência tem sido observada também em outras formas mais brandas da doença, como no genótipo SC. Sabendo-se que a anemia hemolítica característica da doença falciforme gera um quadro de inflamação crônica, que por sua vez é responsável por agravar as complicações clínicas, é possível que a expressão de moduladores inflamatórios seja um dos fatores responsáveis pelo surgimento de manifestações clínicas graves em pessoas com Hb SC. Nesse cenário, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), uma importante citocina pró-inflamatória, poderia ajudar a explicar esses achados. A presença do polimorfismo -308G > A na região promotora do gene eleva a quantidade de citocina circulante, por causa do aumento da transcrição gênica promovida pela mutação. **Objetivo:** Verificar a influência do polimorfismo -308G > A do gene TNFA na ocorrência de sequestro esplênico em pessoas com o genótipo SC da doença falciforme. **Material e métodos:** Foram avaliadas 61 pessoas com doença falciforme SC em acompanhamento no Hemocentro do Rio de Janeiro, de ambos os sexos e com quatro a 60 anos (média de 26,9 \pm 16,4). As amostras de sangue obtidas foram analisadas molecularmente para confirmação do genótipo. Os dados de prontuários médicos foram acessados, com autorização dos clínicos responsáveis, para a obtenção de informação sobre a ocorrência ou não de sequestro esplênico em algum momento da vida. As amostras de DNA foram, então, submetidas ao rastreamento do polimorfismo -308G > A (TNFA) por PCR-RFLP. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste de Odds Ratio, para verificação da chance de ocorrência da complicação quando na presença do alelo mutante A. O nível de significância adotado foi de 95% (p < 0,05). **Resultados:** Foram encontrados 47 (77,1%) indivíduos com o genótipo selvagem (GG) e 14 (22,9%) heterocigotos (GA) para o polimorfismo estudado. Quanto à ocorrência de sequestro esplênico, dos indivíduos com genótipo GG, apenas dois (4,25%) apresentaram histórico da manifestação, enquanto cinco (35,7%) portadores do genótipo GA tiveram a complicação. A análise por Odds Ratio evidenciou uma chance 12,5 vezes maior de portadores do alelo A apresentarem sequestro esplênico, em relação aos portadores de genótipo selvagem (OR = 12,5; 2,1 < 95% > 74,8; p = 0,006). **Conclusão:** A presença do alelo mutante A do polimorfismo -308G/A no TNFA aumenta a chance de ocorrência de sequestro esplênico em pessoas com doença falciforme SC, possivelmente por causa do aumento do processo inflamatório desencadeado pela mutação. **Palavras-chave:** Doença falciforme; Hb SC; inflamação; anemia hemolítica; fator de necrose tumoral alfa. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) n° 2012/19653-1, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Fundação Pró-Instituto de Hematologia (Fundarj) n° 408/10.

35. HEMÓLISE E ESTRESSE OXIDATIVO EM ANEMIA FALCIFORME: INFLUÊNCIA DOS HAPLÓTIPOS DA GLOBINA BETA-S NA RESPOSTA AO USO DE HU

Okumura JV^a, Silva DGH^a, Belini-Junior E^a, Torres LS^a, Oliveira RG^a, Teixeira VU^a, Lobo CLC^b, Bonini-Domingos CR^a

^a Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A hemólise intravascular na anemia falciforme (AF) aumenta os níveis de hemoglobina (Hb) e heme livres no plasma, os quais são tóxicos para o organismo, por serem fontes de espécies reativas de oxigênio (ERO) que levam ao estresse oxidativo. Para minimizar a toxicidade, o organismo responde com a ação de duas glicoproteínas plasmáticas, haptoglobina (Hp) e hemopexina (Hpx), que atuam como depletoras de Hb e heme livres, respectivamente. A hidroxiureia (HU), medicamento no tratamento da AF, regula os danos oxidativos e hemolíticos presentes, e

sua ação pode ser modulada pelos haplótipos da globina beta-S Bantu e Benin, que são relacionados com a pior resposta ao uso do medicamento. **Objetivo:** Compreender a resposta oxidativa e hemolítica ao uso de HU nos pacientes com AF que têm haplótipo Bantu e/ou Benin. **Material e métodos:** De 531 pessoas com AF, selecionamos aquelas acima de 10 anos, com haplótipo Bantu e/ou Benin, sem transfusão sanguínea havia 120 dias e com pelo menos seis meses de uso de HU (dose 22 mg/kg/dia). O grupo de estudo foi composto por 48 pessoas com AF divididos em três subgrupos amostrais: 19 homocigotos para haplótipo Bantu (Bantu/Bantu), 18 heterocigotos para haplótipo Bantu (Bantu/Benin) e 11 homocigotos para haplótipo Benin (Benin/Benin). A genotipagem para a Hb S e haplótipos da beta-S globina foi feita por PCR-RFLP. As quantificações de Hp e Hpx no plasma foram obtidas por Elisa e os níveis de peroxidação lipídica foram medidos por TBARS. Na análise estatística usamos: para dados paramétricos, Anova *one-way* seguido de Fisher e correlação de Pearson; para dados não paramétricos, Kruskal-Wallis seguido de Student-Newman-Keuls e correlação de Spearman. **Resultados:** Os resultados foram apresentados em valores médios \pm desvio padrão e $p < 0,05$ foi considerado significativo. O valor médio de Hp no grupo amostral como um todo foi de $74,15 \pm 4,17$ ng/mL, sendo: em Bantu/Bantu $72,8 \pm 5,71$ ng/mL; em Bantu/Benin $75,08 \pm 2,61$ ng/mL, e em Benin/Benin $74,94 \pm 2,38$ ng/mL. Para Hpx, obtivemos valores médios de $197,06 \pm 34,33$ ng/mL, sendo: em Bantu/Bantu $193,22 \pm 34,84$ ng/mL; em Bantu/Benin $198,29 \pm 34,52$ ng/mL, e em Benin/Benin $201 \pm 35,69$ ng/mL. Para TBARS, no grupo total, média de $2,016,97 \pm 1,395,81$ ng/mL, sendo: em Bantu/Bantu $1,419,31 \pm 638,35$ ng/mL; em Bantu/Benin $2,010,16 \pm 1,041,75$ ng/mL, e em Benin/Benin $3,060,45 \pm 2,168,41$ ng/mL. As amostras obtidas das pessoas do subgrupo Benin/Benin apresentaram maiores níveis de peroxidação lipídica do que em Bantu/Bantu ($p < 0,01$), mas não diferiram de Bantu/Benin. As amostras de pessoas do subgrupo Bantu/Bantu apresentaram mais hemólise do que Bantu/Benin ($p < 0,01$), pelos níveis diminuídos de Hp, mas não diferiram de Benin/Benin. Entre os biomarcadores, houve correlação negativa entre os níveis de TBARS e Hpx no subgrupo Benin/Benin ($r = -0,65$; $p = 0,02$). Com o aumento da peroxidação lipídica nesse subgrupo, os níveis de Hpx diminuíram e, consequentemente, o grupo heme estava livre e liberava o ferro, o qual provavelmente danificou membranas celulares e contribuiu para o aumento dos níveis de TBARS. **Conclusão:** Os haplótipos Bantu e Benin respondem de forma diferente ao tratamento com HU, sendo o Bantu modulador do estresse oxidativo e o Benin modulador da hemólise. **Financiamento:** CAPES, FAPESP (2011/14168-5), FUNDARJ (408/10).

36. ANÁLISE IN SILICO DOS PERFIS DE EXPRESSÃO DE MIRNAS DE RETICULÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM PHHF-2 E DELTA-BETA TALASSEMIA SICILIANA REVELAM O GENE BCL11A COMO SEU PRINCIPAL POTENCIAL ALVO

Fornari TA^a, Ferreira R^a, Lanaro C^a, Donate PB^b, Passos GA^b, Saad STO^a, Costa FF^a

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

^b Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF) e a $\delta\beta$ -talassemia siciliana (DB) são doenças genéticas, caracterizadas por elevados níveis de hemoglobina fetal (HbF) durante a fase adulta, e estão associadas a deleções de tamanhos variados e em diferentes posições dentro do complexo do gene da globina β no cromossomo 11. A PHHF deletional é caracterizada em heterocigotos por níveis de 15% a 30% de HbF e dados hematimétricos normais, enquanto os heterocigotos para DB apresentam níveis de HbF que variam de 5% a 20%, com uma anemia discreta, microcitose e hipocromia. Os microRNAs (miRNAs) têm sido associados ao *switching* das globinas, à modulação de fatores de transcrição específicos para a linhagem eritroide e à regulação da expressão de HbF. Em estudo anterior, avaliamos o perfil de expressão dos miRNAs em cultura eritroide a partir de células CD34⁺. Porém, nenhum estudo que envolva uma análise comparativa dos perfis de miRNAs em PHHF-2 e DB em reticulócitos foi ainda publicado. **Objetivo:** Investigar nessas células o perfil de expressão dos miRNAs e seu possível papel pós-transcricional na ausência de supressão normal da expressão dos genes da globina γ nessas doenças. **Material e métodos:** Reticulócitos de dois indivíduos com PHHF-2, de dois pacientes com DB e de dois controles saudáveis, foram isolados a partir do sangue periférico dessas pessoas para a determinação do perfil de expressão dos miRNAs. Os miRNAs foram hibridados

com o uso de *Agilent miRNA microarray*, e os dados foram obtidos no *software* GeneSpring. Análises de qPCR foram feitas para confirmar os dados de expressão dos miRNAs (TaqMan[®]) e para quantificar a expressão de BCL11A. Bancos de dados como TargetScan e microma.org foram usados para determinação de alvos preditos para cada um dos miRNAs diferencialmente expressos encontrados. **Resultados:** O perfil de expressão revelou 76 miRNAs diferencialmente expressos, dos quais seis estão induzidos em PHHF-2 e DB em relação aos controles: miRs 20b, 32, 148a, 148b, 301a e 363. Nove miRNAs estão induzidos somente em PHHF-2: miRs 15a, 19a, 21, 27a, 96, 101, 194, 374a e 660. Seis miRNAs estão induzidos somente em DB: miRs 18a, 29b, 29c, 140-5p, 185 e 212. A expressão de BCL11A foi significativamente menor nos reticulócitos de PHHF-2 ($p < 0,01$) e DB ($p < 0,05$) quando comparada com os controles. **Discussão:** Dados da literatura e análises *in silico* sugerem, para os miRNAs diferencialmente expressos encontrados em reticulócitos de PHHF-2 e DB, alguns possíveis alvos, como BCL11A, SOX6, MYB, GATA2 e SP1, reconhecidos como importantes na regulação de HbF e durante a diferenciação eritroide. Os miRNAs diferencialmente expressos encontrados e a presença de fatores de transcrição como o BCL11A como possível alvo sugerem que muitos desses miRNAs podem influenciar a expressão do gene da globina γ e, consequentemente, a manutenção elevada dos níveis de HbF durante a vida adulta nas doenças estudadas, o que corrobora nossos dados anteriores em cultura CD34⁺. Além disso, tais resultados poderiam auxiliar no desenvolvimento de uma terapêutica que tornasse possível a elevação dos níveis de HbF para o tratamento de hemoglobinopatias. **Conclusão:** Esses dados podem contribuir para a compreensão das diferenças fenotípicas encontradas entre PHHF-2 e $\delta\beta$ -talassemia siciliana. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT)/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

37. MUTAÇÕES MAIS FREQUENTES CAUSADORAS DE B-TALASSEMIA EM RIBEIRÃO PRETO (SP)

Cominal JG^a, Guimarães JS^a, Silva-Pinto AC^b, Souza AM^a

^a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: As hemoglobinopatias são alterações genéticas resultantes de alterações moleculares simples ou complexas que resultam na produção de uma hemoglobina anormal, seja pela variação de sua estrutura (variantes de hemoglobina), ou por um desequilíbrio na síntese das cadeias globínicas (talassemias). Na β -talassemia há comprometimento das cadeias β , o que leva à redução da síntese ou, nos casos mais graves, à ausência dessas cadeias. A manifestação clínica conhecida como β -talassemia *major* envolve os portadores que necessitam de transfusões sanguíneas periódicas por causa da ausência de cadeias β (β^0) ou redução muito grande dessas cadeias (β^+). Essa ausência/redução leva ao acúmulo de cadeias α , o que ocasiona uma eritropoese ineficaz, com severa anemia, expansão medular, esplenomegalia, deformidades ósseas e acúmulo de ferro. Portadores da doença, antes vistos como assintomáticos, também apresentam sinais clínicos, inclusive acúmulo de ferro, mas não são dependentes de transfusão. Esse grupo é conhecido como β -talassemia *minor* e apresenta uma diversidade fenotípica muito grande. Foram descritas mais de 200 mutações e deleções que atingem o gene da cadeia beta globínica. No Brasil, as mutações mais comuns são: no códon 39 (C substituído por T); IVS-I-110 (G substituído por A); IVS-I-6 (T substituído por C); e IVS-I-1 (G substituído por A). As prevalências das mutações variam de acordo com a região. A mutação no códon 39 (CD39), do tipo *nonsense*, que se relaciona com o genótipo β^0 , é a mais prevalente na região Sudeste. **Objetivo:** Identificar as mutações que causam β -talassemia em 50 pacientes atendidos no Ambulatório de Hemoglobinopatias do Hospital das Clínicas da FMRP-USP. **Material e métodos:** O grupo foi composto por 28 β -talassêmicos *major* e 22 portadores de traço talassêmico. Para tanto, foi feita a pesquisa das quatro mutações mais comuns no Brasil por PCR-alelo específico, com o uso de *primers* específicos para regiões mutadas e normais, de acordo com as padronizações por nós estabelecidas. **Resultados:** Foram encontrados nove homocigotos CD39 (18%), 22 heterocigotos CD39 (44%), nove heterocigotos IVS-I-110 (18%), um homocigoto IVS-I-6 (2%), um heterocigoto IVS-I-6 (2%) e dois heterocigotos compostos CD39 e IVS-I-110 (4%). A mutação IVS-I-1 não foi encontrada. Seis indivíduos (12%) não apresentaram qualquer das muta-

ções pesquisadas, o que sugere a presença de outras mutações mais raras e menos frequentes no Brasil. **Conclusão:** Os resultados encontrados estão de acordo com os de outros estudos presentes na literatura. O método mostrou-se eficaz para a triagem das principais mutações que causam a β -talassemia, e a identificação da mutação ajudará a elucidar a grande heterogeneidade apresentada pela doença.

38. ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE – RELATO DE CASO

Braga CCB, Souza TA, Silva JBCB

Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A anemia hemolítica autoimune (AHA) é uma condição clínica na qual se tem uma destruição acelerada das hemácias, em razão da fixação de imunoglobulinas ou do complemento na superfície das hemácias. Os sintomas iniciais, como tontura, fraqueza, dispnéia e icterícia leve, são decorrentes da anemia causada pela hemólise, dos efeitos secundários do quadro hemolítico ou da doença primária que causou a AHA. **Objetivo:** Analisar caso clínico real à luz de referencial teórico sobre a AHA; avaliar a evolução do quadro clínico apresentado pela paciente durante sua internação; diagnosticar, se possível, a causa e/ou classificação da AHA apresentada pela paciente; aprofundar o estudo sobre o tema a partir de levantamento e análise de referencial teórico relativo a pesquisas recentes. **Material e métodos:** Análise do prontuário da paciente. **Relato de caso:** R.L.D., gênero feminino, 35 anos, solteira, branca, natural e procedente de Campinas (SP), copeira, ensino fundamental completo, foi atendida em hospital universitário de Campinas referindo quadro de inapetência havia 20 dias, acompanhado de cansaço, tontura e dispnéia aos grandes esforços, e notava que a pele estava com coloração amarelada. Referiu emagrecimento de 5-6 kg havia cinco meses. Exames laboratoriais: hemácias: 1,02 milhão/uL, HB: 5,2 g/dL, HTC: 13,7%, VCM: 134,3 fL, HCM: 51 pg, CHCM: 38 g/dL, RDW: 0%, reticulócitos 15,4%, hematócrito 5,9%, BT 3,86 mg/dL, BD 0,67 mg/dL, BI: 3,19 mg/dL, Coombs direto positivo, anti-HBsAg < 2, HBsAg negativo, sorologia para hepatite C negativa. Houve melhora do quadro após tratamento com pulsoterapia com metilprednisolona. **Discussão:** A AHA acomete principalmente mulheres com idade superior a 40 anos. Aproximadamente 70% das AHA são causadas por autoanticorpos a quente, 60% dessas apresentam causa primária, 20% são secundárias a doenças linfoproliferativas como leucemia linfocítica crônica, e 5% são secundárias a doenças colagenosas, principalmente o lúpus eritematoso sistêmico. Embora com menor prevalência, a AHA também pode ser causada por autoanticorpos a frio, que podem apresentar tanto uma causa primária quanto uma causa secundária, e essa é comumente associada a quadros infecciosos, como mononucleose, ou a doenças linfoproliferativas. **Conclusão:** Levando-se em conta o gênero, a idade, as queixas, os exames complementares, a epidemiologia da doença e a responsividade e melhora do quadro da paciente, após tratamento com pulsoterapia com metilprednisolona, há um forte indício de que se trata de uma AHA por anticorpos a quente. Porém, sua causa é primária, ou ainda permanece desconhecida (idiopática), uma vez que não foram encontrados indícios de que a paciente apresenta outras doenças de base, como doenças linfoproliferativas ou doenças colagenosas, que poderiam ser os desencadeantes da AHA.

39. FRAÇÕES DE TRANSFERRINA EM TALASSÊMICOS

Guimarães JS^{a,b}, Cominal JG^a, Silva-Pinto AC^c, Rivella S^b, Souza AM^a

^a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b The Strauss Thalassemia Laboratory, Weill Medical College of Cornell University, Nova York, Estados Unidos

^c Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A transferrina (Tf), proteína plasmática que se liga ao ferro com alta afinidade e ao manganês, cobalto, cobre e cádmio com baixa afinidade, transporta ferro, após a absorção, para os locais de uso e estoque. A Tf tem dois sítios de ligação com o ferro. Assim, quatro formas podem ser encontradas no plasma: apo-transferrina (apo-Tf), que não contém átomos de ferro; transferrina-monoférrica, cujo Fe está ligado à porção C-terminal (Tf-Fe); transferrina-monoférrica, cujo Fe está ligado à porção N-terminal (Fe-Tf); e transferrina-diférrica (Fe₂-Tf). Em condições fisiológicas, 30% a 40% desses sítios de ligação estão ocupados. Entretanto, em casos de sobrecarga de ferro, a Tf pode estar completamente saturada. Para internalização do ferro, a transferrina monoférrica

ou diférrica liga-se ao receptor de transferrina (TfR), uma proteína transmembrana de 190kDa, expressa em todas as células que requerem ferro. O TfR é composto por dois monômeros dissulfeto de 95kDa, organizados dentro de três porções: um extenso domínio extracelular C-terminal, um domínio transmembrana e um domínio citoplasmático N-terminal. O domínio extracelular do TfR1 é arranjado em três subdomínios: helicoidal, apical e proteinase-like, que forma uma pseudocavidade com a membrana plasmática. A porção C-terminal da Fe₂-Tf e da transferrina monoférrica Tf-Fe interage com o domínio helicoidal do receptor, interação forte e rápida (cerca de 50 μ s), enquanto a porção N-terminal da Fe₂-Tf ou transferrina monoférrica Fe-Tf interage com o domínio proteinase-like, interação fraca e muito lenta (duas a seis horas). **Objetivo:** Avaliar, o que foi feito pela primeira vez, a distribuição das frações de transferrina em portadores silenciosos com α^+ -talassemia (PSAT), indivíduos com traço β -talassêmico (TBT) e em pacientes com β -talassemia maior (BTM). **Material e métodos:** Fizemos, no soro fresco, eletroforese em gel de ureia com o uso de gel 6% de TBE-Ureia, Invitrogen™ e cuba de eletroforese Xcell Surelock, Invitrogen™. A média da distribuição das frações Apo, Tf-Fe, Fe-Tf e Fe₂-Tf com 95% de intervalo de confiança em porcentagem foi, respectivamente: controle 57,57 [49,75-66,69], 8,72 [2,11-36,13], 9,95 [3,98-24,90], 7,13 [3,15-16-15]; PSAT 42,35 [31,82-56,43], 13,64 [8,17-22,78], 35,02 [25,77-47,61], 4,19 [2,87-6,12]; TBT 41,06 [27,41-61,50], 12,34 [7,26-20,97], 11,17 [6,46-19,30], 11,22 [5,92-21,24], e BTM 12,62 [5,25-30,30], 10,77 [4,86-23,90], 4,76 [2,09-10,86], 57,80 [39,85-83,85]. Os grupos foram comparados com o uso dos testes *oneway* Anova e pós-teste de comparação múltipla de Tukey. **Resultados:** O grupo BTM apresentou diminuição para Apo-Tf ($p < 0,01$) e aumento para Fe₂-Tf ($p < 0,001$), em relação ao controle, por causa da sobrecarga de ferro e do consequente aumento da saturação de transferrina. O grupo PSAT apresentou aumento para Fe-Tf ($p < 0,01$) comparado com o grupo BTM. Fe-Tf é a fração de interação fraca e lenta e demonstra que alguma alteração no metabolismo do ferro já ocorre nos indivíduos com deleção de apenas um gene alfa. **Conclusão:** Estudos futuros deverão ser feitos para estabelecer a distribuição das frações de transferrina na população brasileira, visto que a distribuição no grupo controle foi diferente da citada pela literatura americana.

40. MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN-1: A POTENTIAL BIOMARKER OF RENAL LESION AND ITS RELATION WITH OXIDATIVE STATUS IN SICKLE CELL ANEMIA

Santos TEJD, Lemes RPG, Barbosa MC, Daher EF, Junior GBS, Santos TND

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

Background: New biomarkers of renal function are being studied for the purpose of detecting early changes in individuals in risk for renal disease, including sickle cell anemia (SCA). The aim of this study was to evaluate the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) as a novel biomarker of renal lesion in SCA and correlate it with the damage caused by reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). **Methods:** This was a cross section and observational study. Samples of blood were collected for hematological and some biochemical parameters, and for RNS. Urine sample was collected for dosage of protein, MCP-1, MDA, and urinary creatinine. The statistical analysis was performed using the Graph Pad Prism® version 5.01 program. **Results:** Patients presented anemia and elevated white blood cell count, with an important increase of monocytes. Common parameters such as urea and creatinine were similar in both controls and patients. The estimated eGFR rate was higher in patients group ($p = 0.002$). MCP-1 dosage increased in patient samples (control: 42.12 \pm 27.6; SSHU: 168.2 \pm 90.10, and SS: 231.4 \pm 123.7 $p < 0.0001$). The group not taking HU presented higher levels of MCP-1 in comparison to the SSHU group (SSHU: 168.2 \pm 90.10 and SS: 231.4 \pm 123.7; $p = 0.023$). The same results were observed for MDA (Control: -2.29 \pm 1.13; SSHU group: -5.60 \pm 2.39; and SS group: -7.23 \pm 2.64, $p < 0.0001$, SS vs. SSHU $p = 0.02$) and NO* (control: -2.25 \pm 1.9; SSHU group: 56.54 \pm 09.15; SS group: 39.12 \pm 09.02, $p < 0.0001$, SS vs. SSHU $p = 0.001$). A positive correlation was obtained between MCP1 and MDA ($r = 0.34$, $p = 0.01$); albuminuria ($r = 0.5$, $p = 0.03$), and NO* ($r = 0.39$, $p = 0.005$). **Conclusion:** Patients with SCA seem to be in an oxidative state that may affect many organs, such as the kidneys. Slight alterations may be present and are not detected by common methodologies used in clinical practice. The outcomes of the study suggest that MCP1 is a predictive biomarker of renal lesion that may reflect the damage caused by oxidative stress present in SCA.

41. DETERMINAÇÃO DAS BASES MOLECULARES DA TALASSEMIA ALFA POR MLPA (MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION)

Mota NO^a, Kimura EM^a, Oliveira DM^a, Pedroso GA^a, Ribeiro DM^a, Santos MNN^a, Bittar CM^b, Albuquerque DM^c, Costa FF^c, Sonati MF^a

- ^a Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil
^b Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil
^c Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A talassemia α é frequentemente causada por deleções que envolvem um ou ambos os genes α no braço curto do cromossomo 16 (16p13.3). A técnica de MLPA é uma importante ferramenta na caracterização dessas deleções. **Objetivo:** Identificar as bases moleculares da talassemia α em cinco pacientes não relacionados, provenientes de Mococa (SP), Porto Alegre (RS), Holambra (SP), Itapira (SP) e Rio de Janeiro (RJ), cujas mutações não puderam ser caracterizadas pelos métodos convencionais. **Resultados:** O primeiro e o último paciente têm doença de Hb H, enquanto os outros três apresentam heterozigose da talassemia α^0 . No paciente 1 (P1), observou-se a remoção de um fragmento de DNA que abrangia desde o (pseudogene) $\Psi\zeta$ até a região *downstream* do gene α_1 , condição essa herdada do pai e associada à deleção $-\alpha^{3,7}$, herdada da mãe. No paciente 2, detectamos uma deleção restrita ao elemento regulatório do *cluster* α (HS-40), herdada da mãe e presente também em irmão. No paciente 3, uma deleção α^0 de proporções similares às da deleção do P1 foi encontrada em heterozigose simples. Já nos pacientes 4 e 5, o MLPA demonstrou remoções que abrangiam desde o $\Psi\zeta$ até a região *downstream* do gene α_1 , porém, com extensão maior do que aquelas observadas nos casos 1 e 3. Nesse último caso, a deleção α^0 também se encontra associada à deleção $-\alpha^{3,7}$. **Conclusão:** Nossos dados enfatizam a importância do método de MLPA na caracterização e no dimensionamento de deleções novas ou raras e na definição das bases moleculares da talassemia α quando os métodos convencionais já não podem fazê-lo. Nos casos aqui estudados, as deleções detectadas são, provavelmente, novas, ou muito raras, e sua devida investigação poderá trazer relevantes conhecimentos sobre a presença e função de outros genes presentes na mesma região cromossômica. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Fundo de Apoio ao Ensino, à Pesquisa e à Extensão (Faepex) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

42. PRINCIPAIS CAUSAS DE ANEMIA ENTRE DOADORES DE SANGUE INAPTOS À DOAÇÃO NA TRIAGEM CLÍNICA NO HEMOCENTRO REGIONAL DE UBERABA (MG), BRASIL

Menezes-Carlos A^a, Souza RAV^a, Moraes-Souza H^{a,b}

- ^a Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brasil
^b Hemocentro Regional de Uberaba, Fundação Hemominas, Uberaba, MG, Brasil

Introdução: Anemia é a principal causa de inaptidão à doação de sangue. O termo anemia é empregado quando há diminuição na síntese de hemoglobina (Hb). Entre elas, a anemia ferropriva é a mais frequente causa de anemia microcítica hipocrômica em todo o mundo. No entanto, outras anemias podem levar à microcitose, como as anemias das doenças crônicas pela perda de oferta de ferro à eritropoiese, as talassemias (α e β) pela síntese deficiente de cadeias globínicas e a anemia sideroblástica congênita por defeitos na síntese do heme. Para confirmação da anemia microcítica, devem ser feitas avaliações clínica e laboratorial que são de fundamental importância para a elucidação diagnóstica e o tratamento adequado. Deve-se evitar, assim, uma abordagem que tem sido ainda frequente, a ferroterapia, que, especialmente nas duas últimas condições, pode levar à sobrecarga de ferro. **Objetivo:** Identificar as causas de anemia microcítica entre os doadores de sangue inaptos por anemia na triagem clínica no Hemocentro Regional de Uberaba. **Material e métodos:** De setembro de 2011 a janeiro de 2013, 420 doadores de sangue foram considerados inaptos à doação na triagem clínica por anemia. O rastreio dos doadores anêmicos é feito pela dosagem do hematócrito, do qual níveis menores do que 40% para homens e 38% para mulheres indicam anemia. A causa da anemia foi pesquisada por meio do eritograma,

para a comparação dos parâmetros hematológicos, da ferrodeficiência, determinada por meio da dosagem da ferritina sérica por aglutinação imunológica, da investigação de talassemias, feita por eletroforese de hemoglobina (Hb) em pH alcalino e ácido, das dosagens das Hb A2 e Fetal e dos testes citológicos para pesquisa dos corpúsculos de inclusão de Hb H. **Resultados:** Dos 420 doadores de sangue inaptos por anemia, a sua etiologia pôde ser investigada em 214. O sexo feminino correspondeu a 91,59% dos doadores inaptos por anemia. Dessas 214 amostras, 101 (47,20%) apresentaram ferrodeficiência isolada, todas de mulheres. A talassemia foi detectada em 11,68% (n = 25) das amostras, sendo 56% (n = 14/25) α -talassemia, 32% (n = 8/25) β -talassemia e 12% (n = 3/25) associação α/β -talassemia. Entre as α -talassemias detectadas, observamos também a associação com a ferrodeficiência em 21,43% (n = 3/14). Entre os doadores inaptos por anemia, também foram identificados o traço falciforme em nove doadores (4,21%) e a hemoglobinopatia C em quatro (1,87%). As origens étnicas dos doadores foram 61,21% brancos (n = 131) e 38,78% negros (n = 83). Em 88 amostras (41,12%), a causa da anemia não foi identificada pelos testes empregados neste estudo. **Conclusão:** A causa de anemia mais frequente foi a ferrodeficiência, seguida da α -talassemia. Não foi identificada a causa da anemia em 41,12% dos doadores inaptos por anemia investigados, o que sugere a importância de se empregarem procedimentos adicionais para esclarecer a etiologia da anemia nesses doadores, pois o seu conhecimento fornece bases para o desenvolvimento de estratégias especiais para melhorar o processo de seleção de doadores e a qualidade do sangue a ser transfundido nos diferentes serviços de hemoterapia.

43. IDENTIFICAÇÃO DE NOVA MUTAÇÃO DELECIONAL NA TALASSEMIA BETA

Carrocini GCS^a, Venancio LPR^a, Pessoa VLR^b, Lobo CLC^b, Bonini-Domingos CR^a

- ^a Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (Ibilce), Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil
^b Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A talassemia beta é caracterizada pela redução total ou parcial da síntese de cadeias da β -globina, que resulta em anemia microcítica e hipocrômica em graus variados. Essa afecção genética é ocasionada na maioria dos casos por mutações circunstanciais, enquanto mutações delecionais são menos comuns. **Objetivo:** Identificar uma provável deleção no gene beta-globina que, de acordo com a localização no gene e o tamanho do fragmento deletado, pode caracterizar uma mutação delecional na talassemia beta ainda não descrita na literatura. **Material e métodos:** Foram usadas amostras de sangue periférico de dois indivíduos adultos, não aparentados, portadores de talassemia beta homocigota, em acompanhamento clínico no HEMORIO. Para a definição e genotipagem das mutações presentes nesses indivíduos, foram rastreadas mutações em todo o gene da beta-globina, desde a região promotora, éxons, íntrons e regiões transcritas e não traduzidas (5'-UTR e 3'-UTR). Para isso, foram desenhados três pares de oligonucleotídeos iniciadores (P1, P2 e P3) que determinaram amplicons de 640pb, 663pb e 829pb, respectivamente, e abrangeram um fragmento com 1.825pb no total. Após extração de DNA, foi feita a análise molecular por PCR convencional para amplificação das regiões P1, P2 e P3 e eletroforese em gel de agarose 2% para posterior visualização dos resultados em sistema de captura de imagens. **Resultados:** A visualização dos produtos de PCR das três diferentes regiões rastreadas do gene beta-globina mostrou, para esses indivíduos, o padrão de 640pb do fragmento P1 e de 829pb do P3, conforme esperado. Entretanto, a amplificação da região P2, que envolveu parte do éxon 2 (172pb) e parte do íntron 2 (491pb) do gene beta-globina, mostrou um fragmento de 663pb e outro com tamanho estimado em 140pb a 150pb, o que indica uma provável deleção gênica de, aproximadamente, 513pb a 523pb, em heterozigose, nos dois indivíduos amostrados. **Discussão:** Relatos da literatura mostram mutações delecionais que ocorrem nas regiões de início do gene beta-globina (região promotora, 5'-UTR e éxon 1), como, por exemplo, as deleções de 532pb, 290pb e 105pb; deleções nas regiões finais do gene (região 3' do íntron 2 e éxon 3), como ocorre na mutação delecional de 619pb; e pequenas deleções que ocorrem no íntron 1, como é o caso das deleções de 29pb e 44pb. Todas essas deleções relacionadas conferem fenótipo β^0 . **Conclusão:** De maneira geral, nossos achados apontam para uma nova mutação

deleção de cerca de 520pb que envolve parte do éxon 2 e parte do íntron 2 do gene beta-globina, que, por sua localização no gene, provavelmente confira fenótipo β^0 . Informamos que as amostras de DNA aguardam resultados do sequenciamento para confirmação da deleção e caracterização exata das bases nitrogenadas eliminadas nessa mutação. **Palavras-chave:** Talassemia beta; mutações; deleção. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

44. DETERMINANTES HEMOLÍTICOS NA ANEMIA FALCIFORME: ANÁLISE DE COMPONENTE PRINCIPAL

Nascimento PP^a, Junior EB^a, Torres LS^a, Okumura JV^a, Venancio LPR^a, Silva DGH^a, Lobo CLC^b, Bonini-Domingos CR^a

^a Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcante (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF), doença hematológica de caráter hereditário, tem o processo de hemólise bem estabelecido como parte da sua fisiopatologia e de suas complicações clínicas. Índices hemolíticos elevados nos indivíduos com AF têm sido propostos como fator de risco independente, e sugere-se que variáveis hemolíticas indiretas possam desempenhar o papel de marcadores para estimativa da gravidade hemolítica nesses indivíduos. A definição desses marcadores poderia auxiliar nos estudos que envolvem fatores genéticos que influenciam os processos hemolíticos. **Objetivo:** Identificar quais as variáveis (hemoglobina total [Hb], reticulócitos, enzimas lactato desidrogenase [LDH], aspartato aminotransferase [AST] e bilirrubina) melhor refletem as características hemolíticas de pessoas com AF. **Material e métodos:** Foram avaliadas 399 pessoas com AF em acompanhamento clínico, de ambos os gêneros e com média de idade de 23,14 \pm 16,4 anos. O diagnóstico laboratorial da AF foi feito por métodos eletroforéticos, cromatográficos e moleculares. Os dados bioquímicos foram obtidos por análise de prontuários médicos com supervisão clínica. Análise de componente principal (ACP), uma análise multivariada que permite avaliar a correlação de variáveis combinando-as na geração de fatores que melhor refletem a variação dos dados, foi usada para derivação das variáveis. **Resultados:** Os componentes hemolíticos derivados (autovalores de 2,72 e 1,04 respectivamente) mostraram ser responsáveis por 75,4% da variação hemolítica nos indivíduos estudados. O primeiro componente principal revelou que as enzimas LDH e AST e os reticulócitos foram responsáveis por 54,5% da variação das variáveis hemolíticas analisadas, o que os caracteriza como variáveis predominantes. As análises também revelaram que as pessoas com AF e que faziam uso de hidroxiureia (HU) por mais de 60 dias apresentaram scores hemolíticos menores, quando comparados com os pacientes que não faziam o uso da HU. **Conclusão:** Entre as variáveis hemolíticas avaliadas, os reticulócitos e as enzimas LDH e AST são indicados como os mais importantes marcadores de hemólise para pessoas com AF na população estudada. O uso dessas variáveis na elaboração de índices hemolíticos é uma ferramenta promissora para futuros ensaios clínicos, no direcionamento de tratamentos personalizados, nas abordagens de prognóstico e nas intervenções terapêuticas. **Palavras-chave:** Hemólise; anemia falciforme; marcadores genéticos. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) n° 140.533/2014-1, Fundação Pró-Instituto de Hematologia (Fundarj) n° 408/10.

45. REFINAMENTO DAS REGIÕES DE BREAKPOINT DE DELEÇÕES ALFA-TALASSÊMICAS RARAS

Mota NO^a, Phylipsen M^b, Suemasu CN^a, Kimura EM^a, Oliveira DM^a, Ribeiro DM^a, Santos MNN^a, Costa FF^c, Hartevelde CL^b, Sonati MF^a

^a Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Hemoglobinopathies Laboratory, Center for Human and Clinical Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Holanda

^c Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: As talassemias α resultam da síntese deficiente de globinas α , causada principalmente por deleções que removem um ou ambos os genes α no genoma haploide. **Objetivo:** Caracterizar as regiões de breakpoint das deleções α -talassêmicas detectadas em três pacientes não relacionados, provenientes de São Paulo (SP), Santa Cruz do

Capibaribe (PE) e Amparo (SP), os dois primeiros com doença da Hb H e o último com heterozigose da talassemia α^0 . **Material e métodos:** A extensão das deleções foi inicialmente estimada por MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification, MRC Holland, Holanda) e o refinamento das regiões de breakpoint foi feito por Fine-tiling array, um aCGH (Comparative Genomic Hybridization array) personalizado de alta resolução, cujas sondas englobam 2 Mb de DNA a partir da região telomérica do braço curto do cromossomo 16, incluindo o cluster α . Suas posições estão de acordo com o UCSC Genome Browser de março de 2006. **Resultados:** As análises mostraram que, no paciente 1, a doença é causada pela associação da deleção $-\alpha^{3,7}$ com uma extensa deleção que compromete desde o telômero até regiões a jusante do cluster α . Ela remove cerca de 470 kb de DNA (da região telomérica até a posição 469.499), com um fragmento de breakpoint de 3.625 pb. O paciente 2 apresenta a mesma associação que o primeiro, porém, a deleção α^0 se revelou mais extensa, com 560 kb (da região telomérica até a posição 560.374), com um fragmento de breakpoint de 250 pb. Já no paciente 3, o MLPA demonstrou que a deleção α^0 é tão extensa que todas as sondas disponíveis estavam deletadas; por meio do Fine-tiling array foi possível delimitá-la e verificar que ela compromete cerca de 774 kb (da região telomérica até a posição 773.874), com um fragmento de breakpoint de 250 pb. **Conclusão:** A aCGH é uma ferramenta importante na determinação de regiões de breakpoint de deleções novas ou raras. Por meio dessa tecnologia, foi possível refinar as regiões de breakpoint de três diferentes e extensas deleções encontradas em pacientes brasileiros. A caracterização dessas alterações é importante porque, além de esclarecer as bases moleculares da talassemia α , permite inferir sobre a relação genótipo-fenótipo nos portadores, tendo em vista se tratar de deleções que removem outros genes contínuos e elementos regulatórios presentes naquela região. É também uma forma de avaliar a função e a importância desses outros genes e elementos presentes no braço curto do cromossomo 16. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Fundo de Apoio ao Ensino, à Pesquisa e à Extensão (Faepex) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

46. RELAÇÃO DA HIDROXIUREIA COM ELEVADA EXPRESSÃO DE BANDA-3 E CD59 EM ERITRÓCITOS NA ANEMIA FALCIFORME

Mecabo G, Yamamoto M, Kimura EYS, Guirao FP, Figueiredo MS

Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A hemólise na anemia falciforme (AF) é predominantemente extravascular. A eriptose depende da exposição de sinais de fagocitose, como o CD47, conhecido como sinal *don't eat me*. Outros mecanismos associados à hemólise, como a ativação do complemento mediada pelo CD59, são pouco conhecidos na AF. A hidroxiureia (HU) apresenta entre seus efeitos redução da hemólise. No entanto, pouco se sabe sobre a ação da HU nesses mecanismos. **Objetivo:** Avaliar marcadores relacionados à hemólise em indivíduos com AF em estado basal, com e sem HU. **Material e métodos:** Foram avaliados 40 indivíduos adultos com AF (n = 36) ou SP⁰-Talassemia (n = 4), 70% do gênero feminino, com mediana de 30 anos (18-70), acompanhados no Ambulatório de Anemias Hereditárias da EPM/UNIFESP. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e todos os pacientes concordaram em participar e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Critérios de inclusão: uso de HU em dose máxima tolerada há mais de um ano (G1, n = 20), e sem uso de HU (G2, n = 20). Critérios de exclusão: gestantes e indivíduos em transfusão crônica. Avaliação laboratorial: hemograma, contagem de reticulócitos (Ret), hemoglobina fetal (HbF), bilirrubina indireta, desidrogenase láctica (DHL) e suas isoformas, Hb livre plasmática (HbL), haptoglobina (Hp), hemopexina, fosfatidilserina, microvesículas (MVC), Howell-Jolly (eritrócitos e Ret), expressão de banda-3, de CD47 (eritrócitos e Ret) e de CD59 (eritrócitos e MCV). Os últimos parâmetros foram avaliados por citometria de fluxo FACSCalibur[®] com o uso de anticorpos específicos de acordo com as instruções do fornecedor. A análise foi feita com o software CellQuest (Becton Dickinson Biosciences[®], San Jose, CA) e os resultados foram expressos em intensidade média de fluorescência ou porcentagem de positividade. Análise estatística: teste de Mann-Whitney e correlação de Pearson, com nível descritivo de 5%. **Resultados:** O volume corpuscular

médio e a HbF estavam aumentados no G1 em comparação ao G2 ($p = 0,033$, $p = 0,0001$, respectivamente). HbL, DHL e as isoformas DHL-1, -2 e -3 estavam diminuídas no G1 ($p = 0,023$, $p = 0,003$, $p = 0,005$, $p = 0,001$, $p = 0,002$, respectivamente). Foi observada correlação entre HbL e DHL-1 ($r = 0,45$; $p = 0,003$); DHL-2 ($r = 0,80$; $p = 0,001$) e DHL-3 ($r = 0,71$; $p = 0,001$). Apesar de diminuída em todos os indivíduos, a Hp apresentou maior concentração no G1 ($p = 0,040$). A expressão de banda 3 e de CD59 em eritrócitos e MCV foi maior no G1 ($p = 0,001$, $p < 0,0001$ e $p < 0,0001$, respectivamente). Demais variáveis não apresentaram diferença estatística. **Discussão:** Os efeitos benéficos da HU incluem diminuição da hemólise, porém, os mecanismos associados ainda são pouco conhecidos. O DHL total e suas isoformas estiveram diminuídas nos pacientes em uso de HU. Apesar de ser marcador inespecífico de dano tecidual e frequentemente associado a lesão pulmonar, o DHL-3 mostrou importante correlação com a HbL, o que sugere que possa ser marcador de hemólise. O uso de HU foi associado a maiores níveis de Hp e reforçou possível ação na hemólise intravascular. A maior expressão de banda 3 e de CD59 nos pacientes com HU sugere ação protetora dessa droga nos eritrócitos falciforme, já que a menor expressão destas proteínas está associada a envelhecimento eritrocitário. **Conclusão:** Este trabalho mostra novos e importantes efeitos da HU na sobriedade eritrocitária. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) 2011/1734-9, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes)/Sistema Único de Saúde (SUS).

47. ESTUDO DOS MARCADORES DE INFLAMAÇÃO NA ANEMIA FALCIFORME: ASSOCIAÇÃO COM OS HAPLÓTIPOS E TRATAMENTO COM HIDROXIUREIA

Filho PAM, Galvão LM, Bandeira ICJ, Barbosa MC, Laurentino MR, Santos TND, Goncalves RP

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

Introdução: A anemia falciforme (AF) é a doença genética caracterizada pela mutação circunstancial do gene da beta globina que leva à produção de uma hemoglobina anormal denominada de hemoglobina S (HbS), em homozigose. A AF vem sendo abordada nas últimas décadas como uma condição inflamatória crônica. A maioria dos pacientes faz uso de hidroxiureia (HU), uma droga citotóxica que induz a produção de hemoglobina fetal (HbF). **Objetivo:** Avaliar o perfil dos marcadores inflamatórios e sua associação com os haplótipos do cluster do gene da beta globina S e com o uso da HU em pacientes adultos, com AF, em acompanhamento ambulatorial no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) em Fortaleza (CE). **Material e métodos:** Estudo transversal composto por 67 pacientes de ambos os sexos, com 18 a 66 anos (média de 35), com diagnóstico clínico e laboratorial de AF, em estado basal. A confirmação da HbSS e a análise dos haplótipos do cluster do gene da beta globina S foram feitas por meio da técnica de reação em cadeia mediada pela polimerase e pelo polimorfismo dos comprimentos de restrição (PCR-RFLP). A dosagem da interleucina 8 (IL-8) e do fato de necrose tumoral alfa (TNF- α) foi feita por Elisa, e da proteína C-reativa ultrassensível (PCR-us), por turbidimetria. Os dados laboratoriais (hemograma e dosagem de HbF) e as informações quanto ao uso de HU foram obtidos dos prontuários. **Resultados:** Pacientes com AF apresentaram média de TNF- α e de PCR-us significativamente mais elevados do que os controles. A IL-8 não apresentou significância estatística na comparação entre pacientes portadores de AF e o grupo controle. Pacientes em uso de HU apresentaram níveis mais elevados, mas não significativos, de IL-8. Os níveis PCR-us foram estatisticamente superiores nos pacientes que não estavam em tratamento. Os níveis de TNF- α apresentaram uma tendência de diminuição no grupo de pacientes em tratamento com HU em relação aos pacientes não tratados. Os níveis séricos de TNF- α e IL-8 foram estatisticamente mais elevados no grupo de pacientes com genótipo Bantu/n quando comparados ao Bantu/Benin. Níveis de PCR-us encontraram-se mais elevados no grupo de pacientes com genótipo Benin/Benin, porém, não apresentaram significância estatística. **Conclusão:** Os resultados demonstraram que o uso de HU, assim como o tipo de haplótipo associado ao gene da beta globina S, apresentaram um papel modulador nos biomarcadores de inflamação. Entretanto, mais estudos são necessários para concluir a real função moduladora desses interferentes no processo inflamatório.

48. IMPACTO DO PAPEL ANTIOXIDANTE DO ÁCIDO ÚRICO NO ESTRESSE OXIDATIVO EM CRIANÇAS COM ANEMIA FALCIFORME EM ESTADO BASAL

Dutra LLA, Lemes RPG, Barbosa MC, Santos TND, Martins JLL, Arruda ABL, Martins A

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

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma doença hematológica hereditária, caracterizada por uma mutação circunstancial no gene da globina beta que gera uma hemoglobina anormal denominada hemoglobina S (HbS), na forma homozigota. A fisiopatologia da AF fundamenta-se na polimerização da molécula de HbS induzida por desoxigenação, com afoqueamento dos eritrócitos. O estresse oxidativo está presente na AF pelo desequilíbrio entre as espécies oxidantes e antioxidantes e leva à peroxidação lipídica, que tem o malonaldeído (MDA) como produto. O ácido úrico é um produto do metabolismo das purinas que, em concentrações normais, mostra uma ação antioxidante e age como um sequestrador de radicais livres. A hidroxiureia (HU) é o medicamento usado no tratamento da AF, eleva os níveis de HbF, reduz a polimerização da HbS e melhora a qualidade de vida dos pacientes. **Objetivo:** Analisar o papel antioxidante do ácido úrico em crianças com AF acompanhadas em um hospital de referência do Ceará. **Material e métodos:** Estudo transversal com 60 crianças de ambos os sexos com diagnóstico de AF, em estado basal, 28 em uso de HU (grupo I) e 32 sem HU (grupo II). Um grupo controle foi constituído por 24 crianças aparentemente normais atendidas em unidade básica de saúde. As amostras foram obtidas de sangue venoso em tubos com heparina. O MDA foi dosado como parâmetro oxidativo e determinado por método espectrofotométrico. O ácido úrico foi determinado em aparelho automatizado pelo método colorimétrico enzimático. A análise estatística foi feita no programa GraphPrism, e os testes estatísticos usados foram t de Student e Anova, com nível de significância de 0,05. Do total de crianças, 48,33% foram do sexo masculino e 51,67% do feminino, com faixa de idade de 1 a 18 anos e média de 11, com predomínio de etnia parda. **Resultados:** Os valores médios da hemoglobina (Hb) e do hematócrito (Ht) nos pacientes com AF foram significativamente mais reduzidos em relação ao grupo controle, enquanto o VCM e o HCM no grupo I foram significativamente mais elevados em relação aos grupos II e controle. Os pacientes com AF apresentaram níveis de MDA significativamente elevados em relação ao grupo controle. Os níveis de ácido úrico foram significativamente diminuídos no grupo com AF em relação ao controle. Não houve diferença entre os grupos I e II em relação a MDA e ao ácido úrico. **Conclusão:** O ácido úrico apresenta um impacto sobre o estresse oxidativo, e o uso crônico da HU não interferiu nos parâmetros analisados. O ácido úrico pode ser usado como um marcador antioxidante na AF.

49. NOVA VARIANTE DE G6PD COM REPERCUSSÃO CLÍNICA: G6PD*MOCAJUBA

Berg AVVD, Santos SBD, Menezes VVDB, Ramalho LMBF, Santos ARD

Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: A deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é um defeito enzimático comum, que afeta cerca de 400 milhões de pessoas no mundo e causa anemia hemolítica quando agentes oxidantes são gerados após contato com princípios ativos, ou, infecção aguda. O gene da G6PD está localizado na região Xq28 do cromossomo X, e as mutações que levam à deficiência enzimática afetam a sequência codificadora. As variantes de G6PD foram classificadas de acordo com a atividade enzimática em cinco grupos: (1) anemia hemolítica crônica não esferocítica; (2) deficiência grave de atividade enzimática (10% da atividade); (3) deficiência moderada de atividade enzimática (10% a 60% da atividade); (4) não deficientes, e (5) atividade aumentada. A G6PD é uma proteína constituída de 514 aminoácidos. A forma ativa é um homodímero ou tetramero. Existem cerca de 400 mutações descritas e a maioria se deve à mutação do tipo substituição de única base com troca de aminoácidos, o que é responsável pela gravidade clínica. No Brasil, em geral, a frequência de G6PD deficiente varia de 2% a 5% na população, e 98% dos casos se devem à variante africana (G6PD*A^{-376/202}). **Objetivo:** Apresentar dois casos de deficiência de G6PD em irmãos (gênero feminino e masculino) com uma nova variante (denominada G6PD*^{Mocajuba}). **Material e métodos:** As amostras de sangue periférico foram coletadas no Laboratório de Genética Humana e Médica da Universidade Federal do Pará. Usou-se a técnica de extração de Sambrook et al. (1989), seguida da PCR e sequenciamento

direto. Foram sequenciados os éxons de 2 a 12 do gene da G6PD nos dois indivíduos investigados. **Resultados:** Mutação do tipo substituição no éxon 7, na posição nt 15.380. A presença dessa mutação provocou uma transição de GA no primeiro resíduo do AA da trinca GAC AAC. Essa mutação ocasionou a mudança de ácido aspártico (Asp) para o resíduo aspargina (Asn) de caráter neutro. A repercussão clínica foi observada apenas no gênero masculino, que apresentava quadro clínico exuberante, com necessidade transfusional frequente e esplenectomia. A nova variante apresentou atividade enzimática deficiente, cujo sequenciamento identificou uma mutação inédita na posição, Asp228Ans, sugestiva da manifestação clínica do paciente.

50. CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE VARIANTES DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE (G6PD) EM POPULAÇÕES DA AMAZÔNIA

Santos SABD^a, Berg AVVD^b, Santos ARD^b

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia do Pará (HEMOPA), Belém, PA, Brasil

^b Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: A enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é um defeito enzimático frequente, que afeta cerca de 400 milhões de pessoas no mundo. Mutações que ocorrem dentro de seus sítios gênicos levam à mudança na estrutura da enzima e ocasionam deficiência. O gene da enzima G6PD é altamente polimórfico, com mais de 400 mutações descritas que resultam em distintas variantes com diferentes manifestações clínicas. Populações de origem africana e europeia apresentam elevada frequência de indivíduos deficientes para a enzima G6PD. Uma vez que esses grupos étnicos também contribuíram para a formação de algumas populações da Amazônia Brasileira, torna-se importante a caracterização molecular das principais variantes na região. **Material e métodos:** No presente estudo, investigamos 2.522 indivíduos da região amazônica. Desses, 1.110 foram investigados no presente estudo e representam nove populações da região; 1.412 do sexo masculino foram acrescentados do trabalho publicado por Santana et al. (2013), da população de Manaus. A distribuição das amostras investigadas proveniente do Estado do Pará (PA) são: Belém (256); Santana (161); Trombetas I (138); Trombetas II (108); Santarém (103); Altamira (101) e Pitmandeua (73). No Estado do Maranhão (MA) investigamos: Santa Flor (88) e Pontal (82). De modo geral, as amostras de sangue periférico foram coletadas em cada localidade, com o uso de tubo vacutainer de 5 mL com EDTA. A triagem dos pacientes deficientes foi feita por meio do método bioquímico de redução da meta-hemoglobina, confirmado pela eletroforese em gel de agarose a 0,9%, *in loco*. Em seguida, todas as amostras foram enviadas ao Laboratório de Genética Humana e Médica da Universidade Federal do Pará, em Belém, para a aplicação das técnicas moleculares. Para a extração de DNA, seguiu-se o método de Sambrook et al. (1989). A amplificação dos fragmentos investigados foi feita pela técnica da PCR, seguida do sequenciamento direto dos éxons de 2 a 12 do gene da G6PD. **Resultados:** A caracterização molecular mostrou cinco principais grupos de mutações: (i) um perfil de frequência do alelo G6PD^{A-376/202} que variou de 0% em Santa Flor (MA) a 14,5% em Santana (PA); (ii) o alelo G6PD^{A-376/968} foi observado a 2,6% em Pontal (MA); (iii) um perfil de frequência do alelo G6PD^A variou de 0% em Altamira (PA) a 18% em Pontal (MA); (iv) o alelo selvagem G6PD^B foi observado a 73% em Pontal (MA) e a 99% em Santa Flor (MA), e (v) um último grupo formado pela presença do alelo G6PD^B - em conjunto com outras variantes não identificadas apresentou um perfil de frequência que variou de 0% a 5%. Nossos resultados refletem o processo de miscigenação étnica, ocorrido durante a colonização, e mostram as mutações deficientes para a G6PD. Os alelos deficientes apresentaram frequência média em torno de 7% nas populações da Amazônia Legal, valores considerados elevados, haja vista que a Amazônia é uma região endêmica para a malária. **Conclusão:** Sugerimos que seja reconsiderada a atual política de tratamento da malária nessa região, assim como para outras doenças infecto-parasitárias. Adicionalmente, o diagnóstico da deficiência de G6PD deve ser considerado após o nascimento e antes de qualquer tratamento nesses pacientes. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Pará (Fapespa) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

51. RELATO DE CASO DE UMA CRIANÇA DE TRÊS ANOS COM ESFEROCITOSE HEREDITÁRIA EVIDENCIANDO OS EXAMES LABORATORIAIS

Arruda ABL^a, Vieira AP^a, Lemes RPG^a, Souza IP^a, Arruda AAL^a, Ricardo IS^a, Castro MF^a, Lima AB^b, Barros AEC^a, Lima AIH^c, Neto CS^a

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

^b Prefeitura Municipal de Fortaleza, Fortaleza, CE, Brasil

^c Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: A esferocitose hereditária (EH) é uma doença que afeta os glóbulos vermelhos e tem caráter hereditário, e as anormalidades encontradas nessa anemia resultam de defeitos heterogêneos na composição proteica da membrana plasmática dos eritrócitos. As manifestações clínicas da EH, quando presentes, estão relacionadas com o quadro hemolítico, incluindo: palidez e cansaço, relacionados à anemia, e icterícia, o que causa a hiperbilirrubinemia. Nos casos agudos pode haver hipóxia, especialmente em recém-nascidos. Já nos quadros crônicos, é possível observar anemia, aumento da viscosidade sanguínea e esplenomegalia. O diagnóstico laboratorial é feito por meio do hemograma, da contagem de reticulócitos, da curva de fragilidade osmótica, das dosagens das transaminases hepáticas e das bilirrubinas direta, indireta e total. **Objetivo:** Descrever um estudo de caso de uma paciente com diagnóstico de esferocitose hereditária, bem como correlacionar a doença com os exames laboratoriais. **Material e métodos:** Estudo descritivo, com enfoque predominantemente qualitativo, cujo paciente foi uma criança, de três anos, com histórico de icterícia intermitente, fraqueza e baço aumentado. A coleta de dados foi feita em um laboratório de análises clínicas particular de Fortaleza (CE), de junho de 2013 a dezembro de 2013. As informações e os dados da paciente foram obtidos por meio do acesso aos exames laboratoriais feitos semanalmente em todo esse período e da abordagem aos pais, que forneciam alguns dados clínicos da criança. **Resultados:** Ao exame físico, a criança apresentava icterícia e abdome flácido, indolor, plano com baço palpável, ou seja, nítida esplenomegalia. Os exames laboratoriais mostraram hemoglobina entre 8 e 11 g/dL, VCM diminuído, HCM e CHCM aumentados, esfregaço sanguíneo com numerosos microesferócitos, policromasia, muitas vezes anisocitose cursando com presença de macrócitos. As séries branca e plaquetária estavam normais, o teste Coombs direto apresentou-se negativo, entretanto, a contagem de reticulócitos, as dosagens de bilirrubina, urobilínogênio, DHL e TGO e a prova de fragilidade osmótica estavam aumentadas. **Conclusão:** Os resultados laboratoriais confirmaram a esferocitose e a evolução clínica da criança até o presente momento está satisfatória.

52. TALASSEMIA NÃO DEPENDENTE DE TRANSFUÇÃO E DETERMINAÇÃO DA SOBRECARGA DE FERRO

Silva AMF, Mecabo G, Goncalves LM, Figueiredo MS

Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Pacientes talassêmicos não dependentes de transfusão (TNDT) sofrem com ampla gama de complicações clínicas, incluindo o acúmulo de ferro (Fe) em órgãos-alvo e consequente morbimortalidade. Um dos principais desafios da monitoração do excesso de Fe é a interpretação dos dados laboratoriais do Fe (perfil de Fe) e sua correlação com a sobrecarga. **Objetivo:** Avaliar a correlação do perfil de Fe com acúmulo de Fe cardíaco e hepático, avaliados por ressonância nuclear magnética (RNM), para auxiliar na monitoração e no consequente manejo da sobrecarga desse metal. **Material e métodos:** Estudo observacional retrospectivo de pacientes com TNDT em acompanhamento na EPM/UNIFESP, no qual foram avaliados dados demográficos, histórico transfusional, uso de quelantes de Fe, perfil de Fe e mensuração de Fe cardíaco e hepático por RNM. Critérios de inclusão: diagnóstico de TNDT conforme critérios de Weatherall et al. (Blood Rev, 2012). Critérios de exclusão: transfusão crônica. Perfil de Fe foi avaliado por meio de dosagem de ferritina sérica (ng/mL) e saturação de transferrina (STF, %) calculada conforme Turati et al. (Biochim Clin, 1997). Foi considerada a média dos exames próximos à data da RNM, excluindo processo inflamatório/infeccioso agudo. Na avaliação do acúmulo de Fe cardíaco e hepático pela RNM, foram consideradas a medida de T2* (ms) em septo cardíaco e a concentração hepática de ferro (LIC, mg de Fe/g peso seco) a partir da mensuração do T2* em fígado. Para o cálculo da relação ferritina/LIC, foi usada fórmula descrita em Fischer et al. (Blood, 2006).

Foram avaliados oito pacientes com TNDT, sete com beta-talassemia intermédia e um com doença da hemoglobina H. A mediana de idade foi de 47,5 anos (30-64), com predomínio do gênero feminino (7/8). Três pacientes apresentavam número de transfusões superior a 20 e estavam em uso regular de quelante de Fe. Os outros faziam apenas transfusões eventuais, sem quelante. **Resultados:** Observou-se correlação de Spearman entre: ferritina x LIC: $r = 0,8$ ($p = 0,02$) e STF x LIC: $r = 0,76$ ($p = 0,003$). As correlações entre ferritina x STF; ferritina x T2* e STF x T2* não foram significativas. A relação ferritina/LIC foi de 66,3. Nosso estudo demonstrou correlação positiva entre ferritina e LIC, semelhante aos estudos de Voskaridou et al. (Br J Haematol, 2004) e de Taher et al. (Haematol, 2008). A STF teve forte correlação com o LIC, mas não significante com a ferritina ($r = 0,71$; $p = 0,057$), provavelmente por causa do tamanho da amostra. Apesar desse resultado, nossos dados reforçam a utilidade da STF. Dados anteriores mostram que pacientes com TNDT têm menor probabilidade de desenvolver siderose cardíaca em comparação com a talassemia maior. Em concordância, nossos pacientes não apresentaram depósito de Fe cardíaco, e tanto a ferritina quanto a STF não apresentaram correlação com o T2*. A ferritina/LIC foi semelhante ao valor de 56,96 observado por Pakbaz et al. (Pediatr Blood Cancer, 2007). Esse fato corrobora achados anteriores de que, para um mesmo valor de LIC, pacientes com TNDT apresentam menores valores de ferritina do que os com talassemia maior. **Conclusão:** Existe necessidade de cautela na interpretação da dosagem de ferritina em indivíduos TNDT, pelo risco de subestimar o depósito de Fe. **Agradecimento:** Novartis Brasil.

53. MANIFESTAÇÕES VASO-OCCLUSIVAS EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME EM USO DE HIDROXIUREIA. EXPERIÊNCIA DE UM ÚNICO CENTRO

Kase D, Silva AMF, Goncalves LM, Figueiredo MS

Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Na anemia falciforme (AF) observa-se diminuição importante da qualidade de vida e menor sobrevida em relação à população geral. Sua principal complicação é a crise algica (CA), que frequentemente necessita atendimento em serviço de emergência (SE) e internação hospitalar. Entre os adultos, as CAs de repetição estão associadas à tendência de morte precoce. Estudos prévios demonstram que a hidroxiureia (HU) é eficaz em reduzir a frequência de CAs e síndrome torácica aguda (STA), com impacto positivo na sobrevida. **Objetivo:** Avaliar o perfil de resposta à HU no controle de manifestações vaso-occlusivas agudas (MVOs) da AF em um grupo de pacientes brasileiros. **Material e métodos:** Estudo observacional retrospectivo, feito no Ambulatório de Anemias Hereditárias da EPM/UNIFESP. Pacientes com AF foram avaliados por meio de entrevista e revisão de prontuário de fevereiro a maio de 2014 para obtenção de dados demográficos, uso atual e tempo de uso de HU e número de MVOs nos últimos 12 meses, segundo critérios definidos por Ballas et al. (Am J Hematol, 2010). Critério de inclusão: uso de HU havia pelo menos seis meses, segundo orientações do Ministério da Saúde (portaria nº 55, 29/01/10). Na análise das MVOs, consideraram-se três diferentes classes de manifestações: a) CAs que necessitaram de opioide; b) atendimentos em SE por crise vaso-occlusiva, e c) episódios de STA. **Resultados:** Foram entrevistados e revisados prontuários de 82 pacientes, 59 (72%) mulheres e 23 (28%) homens. Desse total inicialmente avaliado, 78% (18/23) dos homens faziam uso de HU, enquanto entre as mulheres a relação foi de 59% (35/59). Consideraram-se elegíveis para este estudo 53 (65%) indivíduos, ou seja 18 (34%) homens e 35 (66%) mulheres. A média de idade foi $31,45 \pm 11,2$ anos e o tempo médio de uso de HU foi de $5,06 \pm 3,5$ anos. Em relação às CAs, 41 (77%) pacientes tiveram até dois episódios, e 12 (23%) três ou mais, com mediana de 1 CA/ano (0-10) e média = $1,56 \pm 1,9$ CA/ano. Quarenta e um (77%) pacientes procuraram o SE no máximo uma vez, sete (13%) duas vezes e cinco (9%) três ou mais vezes. A maioria dos pacientes não apresentou episódio de STA (45, 85%), seis (11,3%) tiveram um episódio e dois (3,7%) tiveram dois ou mais episódios. **Discussão:** Embora a maioria dos pacientes avaliados fosse do gênero feminino, o uso de HU foi mais frequente entre os homens. Essa diferença pode refletir a melhor adesão das mulheres ao acompanhamento médico, enquanto os homens permanecem em acompanhamento principalmente em situações de maior gravidade. Nosso estudo demonstrou bom controle das MVOs em comparação com dois dos principais grupos que avaliaram a eficácia da HU (Carache et al., NEJM, 1995; Voskaridou et al., Blood, 2009). Observou-se menor frequência de CA em relação ao estudo de Carache (mediana = 2,5 CA/ano). Essa diferença pode ter sido

relação com o tempo de uso de HU, dois anos no estudo de Carache e cinco nesta análise, considerando-se que a importância do tempo de uso de HU foi enfatizada no trabalho de Steinberg et al. (Am J Hematol, 2010). O estudo de Voskaridou apresentou média menor de CA (0,025/ano), provavelmente pelo número de pacientes com S-Beta-talassemia incluídos. Além disso, esses autores consideraram episódio doloroso somente aquele que necessita de internação ou atendimento em SE, diferentemente de nosso estudo. **Conclusão:** Nosso trabalho corrobora o benefício do uso de HU em longo prazo no controle das MVOs.

54. DISTRIBUIÇÃO DOS GENÓTIPOS DA HAPTOGLOBINA EM PACIENTES COM DOENÇAS FALCIFORMES (HBSS, HBSC E HBS/-TALASSEMIA)

Rezende NC^a, Machado LMS^a, Ribeiro DM^a, Bezerra MAC^b, Domingos IF^c, Martins DAP^c, Araújo AS^c, Costa FF^d, Sonati MF^a, Santos MNN^a

^a Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^c Hemocentro de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil

^d Hemocentro da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A doença falciforme (DF) é caracterizada pela variabilidade de suas manifestações clínicas. O entendimento do mecanismo de ação de candidatas a moduladores, como os componentes inflamatórios, vasculares e hemolíticos, pode levar a novas descobertas e abordagens terapêuticas. O polimorfismo da haptoglobina (Hp) tem sido investigado como um possível modulador genético da DF. A função primordial da Hp é se ligar à molécula de hemoglobina (Hb) livre no plasma, impedir a excreção renal de ferro e proteger os vasos de seus efeitos oxidativos. Além de antioxidante, ela é ainda uma proteína de fase aguda, com capacidade imunomodulatória. Dois alelos codominantes, HP1 e HP2, resultam em três genótipos/fenótipos principais, Hp1-1, Hp2-1 e Hp2-2, que correspondem a proteínas com características físico-químicas e eficiências funcionais distintas. Alguns estudos têm sugerido que o genótipo Hp2-2 pode estar associado a uma pior evolução clínica dessa doença, sendo menos frequente quanto maior a idade dos pacientes. **Objetivo:** Avaliar como os genótipos da Hp se distribuem entre pacientes com diferentes DF (total de 904 pacientes com 3 meses-70 anos), sendo 712 SS, 109 SC e 83 com S/β-talassemia, todos acompanhados no Hemocentro de Pernambuco. **Material e métodos:** A genotipagem da Hp foi feita por PCR alelo-específica. **Resultados:** As frequências dos genótipos Hp1-1, Hp2-1 e Hp2-2 no grupo de pacientes HbSS foram, respectivamente, 27,5% (n = 196), 48,9% (n = 348) e 23,6% (n = 168), enquanto no grupo de pacientes HbSC foram de 18,3% (n = 20), 62,4% (n = 68) e 19,3% (n = 21); já entre os pacientes com HbS/β-talassemia, foram de 25,3% (n = 21), 55,4% (n = 46) e 19,3% (n = 16). Não houve diferença significativa na distribuição dos subtipos de Hp entre os três grupos de pacientes estudados ($p = 0,09$). Entretanto, foi possível observar que, entre os pacientes com HbSS e HbS/β-talassemia, o genótipo Hp2-2 foi menos representado do que os outros genótipos. **Conclusão:** Embora a casuística precise ser ampliada, para ser representativa da população em estudo, e estratificada por faixas etárias, esses resultados sugerem que, nas formas mais graves da DF, pode haver seleção negativa do genótipo Hp2-2, efeito que, somado aos de outros moduladores genéticos e ambientais, pode influenciar o curso dessa doença. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Fundo de Apoio ao Ensino, à Pesquisa e à Extensão (Faepex) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

55. POLIMORFISMO DO GENE DA HEMOPEXINA EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Machado LMS^a, Rezende NC^a, Santos MNN^a, Albuquerque DM^b, Mota NO^a, Bezerra MAC^c, Domingos IF^d, Araújo AS^d, Costa FF^b, Sonati MF^a, Ribeiro DM^a

^a Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^c Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^d Hemocentro de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil

Introdução: A hemopexina (Hpx) é uma glicoproteína plasmática cuja função primordial é a de se ligar ao grupo heme livre no plasma e transportá-lo para o fígado para degradação e reuso do ferro. Previne assim o estresse oxidativo mediado pelo heme nos vasos. Pouco se sabe sobre o polimorfismo da Hpx e a importância biológica dessa variabilidade em portadores de doenças hemolíticas, como a anemia falciforme (AF), cuja heterogeneidade clínica resulta, provavelmente, do efeito acumulado de múltiplos moduladores genéticos e ambientais. **Objetivo:** Investigar o polimorfismo do gene Hpx em 50 amostras de DNA de pacientes com AF acompanhados no HEMOPE. **Material e métodos:** Os sítios polimórficos já identificados nas regiões codificantes desse gene foram obtidos junto ao GenBank/NCBI – National Center for Biotechnology Information; as análises incluíram a amplificação, por PCR, e o sequenciamento direto de três regiões do DNA genômico dos pacientes, que englobou as mutações de interesse. **Resultados:** Sua presença foi observada em 16 amostras (32%). Na primeira região sequenciada foi encontrado o polimorfismo (ACC > GCC) no códon 40 do exon 2, em três pacientes (18,75%); na segunda região, observou-se o polimorfismo (AAG > AAA) no códon 178 do exon 6, em seis pacientes (37,5%); na última região, foram observados dois polimorfismos, ambos no exon 10, no códon 349 (GTC > GTT), em quatro pacientes (25%), e no códon 371 (CGG > TGG), em três pacientes (18,75%). Todas as mutações observadas encontravam-se em heterozigose. De nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo que investiga os polimorfismos do gene Hpx em uma amostra de pacientes brasileiros com AF. **Conclusão:** Estudos futuros com o objetivo de associar os polimorfismos do Hpx à evolução clínica da doença e aos seus moduladores clássicos poderão contribuir para uma melhor compreensão do seu papel na fisiopatologia da AF. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

56. INFLUÊNCIA DOS GENÓTIPOS DA HAPTOGLOBINA NOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DO ANTÍGENO DO FATOR DE VON WILLEBRAND EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Santos MNN^a, Albuquerque DM^b, Machado TFGS^b, Bezerra MAC^c, Lanaro C^b, Ribeiro DM^a, Araújo AS^d, Costa FF^b, Paula EV^a, Sonati MF^a

^a Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^c Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^d Hemocentro de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é caracterizada por alterações vasculares que resultam da disfunção endotelial, leucocitose e ativação de leucócitos e plaquetas. Essas alterações ocorrem em um contexto de hemólise acentuada, falcização das hemácias e adesividade das células sanguíneas ao endotélio e levam a mudanças no tônus vascular e à vaso-oclusão. A haptoglobina (Hp) é uma glicoproteína plasmática cuja função primordial é ligar-se à hemoglobina (Hb) livre no plasma para prevenir a excreção renal de ferro e os efeitos oxidativos resultantes de sua presença no vaso. Além disso, é uma proteína de fase aguda positiva, com propriedades imunomodulatórias. Dois alelos codominantes, HP1 e HP2, resultam em três genótipos/fenótipos principais, Hp1-1, Hp2-1 e Hp2-2, que correspondem a proteínas com características físico-químicas e eficiências distintas. **Objetivo:** Avaliar se os genótipos da Hp podem influenciar as concentrações plasmáticas do antígeno do fator de von Willebrand (FvW:Ag) (marcador de disfunção endotelial) em amostras de pacientes adultos (18-54 anos) com AF acompanhados no HEMOPE. **Material e métodos:** Foram comparados os níveis plasmáticos do FvW:Ag, determinados por Elisa, em 92 pacientes [51 do sexo masculino (55,4%) e 41 do feminino (44,6%)], subdivididos em Hp1-1 (n = 27), Hp2-1 (n = 37) e Hp2-2 (n = 28). Os genótipos da Hp desses pacientes foram determinados por PCR alelo-específica. **Resultados:** A dosagem do FvW:Ag foi significativamente menor (p = 0,018) entre os pacientes Hp2-2 (mediana = 144,1%) do que entre os pacientes Hp1-1 e Hp2-1 (medianas de 166,4% e 173,4%, respectivamente), independentemente da idade e do grupo sanguíneo ABO (níveis aumentados do FvW são observados tanto com a progressão da ida-

de quanto em indivíduos de grupos sanguíneos não O). Uma possível explicação seria que, como o complexo Hp2-2-Hb é removido mais lentamente da circulação, sua maior permanência no vaso aumentaria as chances de ocupação, pela Hb, do sítio proteolítico da enzima ADAMTS13 para clivagem dos multímeros do FvW, o que resulta em menores concentrações plasmáticas do FvW:Ag. **Conclusão:** Os resultados aqui obtidos, ainda parciais, sugerem que os genótipos da Hp podem influenciar as concentrações plasmáticas do FvW e se relacionar com o grau de disfunção endotelial. Um número maior de casos e estudos experimentais visando à maior compreensão desse mecanismo de interação seria importante para avaliação dessa hipótese. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

57. TRATAMENTO DE ÚLCERAS DE MEMBROS INFERIORES EM DOENÇA FALCIFORME – RELATO DE CASOS

Horta RGT^a, Freitas JC^b, Landwehr AKM^a, Azevedo AC^a, Franco LCA^a

^a Hospital Materno Infantil de Brasília (HMIB), Hospital Regional de Taguatinga (HRT), Secretaria de Saúde do Distrito Federal, Brasília, DF, Brasil

^b Serviço de Assistência Médica e Social (SAMS), Senado Federal, Brasília, DF, Brasil

Introdução: A prevalência de úlceras de membros inferiores em doença falciforme é de 8% a 10%. Em pessoas com hemoglobina (Hb) SS a incidência é maior, 10% a 20%, e menor nos portadores de Hb SC. Afetam mais o sexo masculino, têm evolução arrastada, comprometem a qualidade de vida e podem ser incapacitantes. **Objetivo:** Relatar o tratamento, com sucesso, de quatro casos de úlceras de membros inferiores associadas à doença falciforme. **Material e métodos:** Os núcleos de hematologia do HMIB e do HRT que acompanham ambulatorialmente pacientes de doença falciforme, em parceria com o Ambulatório de Tratamento de Feridas do SAMS, fizeram o tratamento de quatro pacientes em uso de hidroxiureia com úlceras de membros inferiores. Três fizeram antibioticoterapia prévia ao tratamento tópico, que se baseou em debridamento do tecido desvitalizado, controle da infecção e da dor e manutenção do meio úmido da ferida. Foram usadas coberturas interativas, como alginate de cálcio e sódio, carvão ativado com prata, gel hidratante com alginate de cálcio, hidrofibra com prata e, eventualmente, bota de Unna. **Resultados:** Três pacientes evoluíram com as lesões cicatrizadas e uma paciente está em fase final de cicatrização. **Conclusão:** O tratamento de úlceras de membros inferiores em doença falciforme pode ser desafiador e mesmo frustrante. Para o sucesso no tratamento, a terapia deve ser precoce. É necessária a abordagem interdisciplinar, multifatorial, o que envolve o controle da doença falciforme e o uso de várias modalidades terapêuticas.

58. RELAÇÃO ENTRE A ESTIMATIVA DA TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR E OS GENÓTIPOS DA HAPTOGLOBINA EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Santos MNN^a, Faber EW^a, Fertrin KY^a, Albuquerque DM^b, Bezerra MAC^c, Lanaro C^b, Ribeiro DM^a, Araújo AS^d, Costa FF^b, Sonati MF^a

^a Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^c Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^d Hemocentro de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil

Introdução: A hiperfiltração glomerular parece ser um dos primeiros indícios do surgimento de nefropatia na anemia falciforme (AF). O aumento do estresse oxidativo é considerado um mecanismo patogênico importante no desenvolvimento de alterações vasculares, e pacientes com AF são suscetíveis a esse processo por causa da hemólise acentuada, já que a hemoglobina (Hb) livre no plasma atua como um catalisador poderoso para início da reação peroxidativa. A haptoglobina (Hp) é uma glicoproteína plasmática cuja função primordial é ligar-se à Hb livre no plasma para prevenir a excreção renal de ferro e o dano renal. Dois alelos codominantes (HP1 e HP2) resultam em três genótipos/fenótipos principais, Hp1-1, Hp2-1 e Hp2-2. Esse polimorfismo tem sido associado à evolução clínica de várias doenças inflamatórias nas quais o estresse oxidativo de-

sempeña papel relevante. O genótipo Hp2-2 é um fator de risco para complicações micro e macrovasculares em algumas delas. **Objetivo:** Avaliar se os genótipos da Hp poderiam influenciar as taxas de filtração glomerular (eTFG) estimadas para 91 pacientes adultos (18-54 anos) com AF, acompanhados no HEMOPE e subdivididos em Hp1-1 (n = 26), Hp2-1 (n = 37) e Hp2-2 (n = 28). **Material e métodos:** Os genótipos de Hp foram determinados por PCR alelo-específica e as dosagens plasmáticas de creatinina pelo método de Jaffé; as eTFGs foram calculadas pela fórmula simplificada do MDRD (Modified Diet in Renal Disease): $[eTFG (mL/min/1,73m^2) = 175 \times (creatinina\ sérica)^{-1,154} \times (idade)^{-0,203} \times 0,742 (se\ mulher)]$. A insuficiência renal foi definida como eTFG < 60 mL/min/1,73m² e a hiperfiltração renal como eTFG > 130 e > 140 mL/min/1,73m² para mulheres e homens, respectivamente. **Resultados:** Apresentaram hiperfiltração glomerular 59 pacientes (64,8%). Não foram observadas diferenças entre os genótipos da Hp e as determinações de creatinina e eTFGs nesse grupo. Entretanto, quando os pacientes foram estratificados de acordo com a mediana da idade (27 anos), observou-se que os níveis de creatinina eram significativamente menores nos pacientes Hp2-2 com idade superior a 27 anos (p = 0,01), ou seja, esses pacientes apresentaram tendência à filtração glomerular aumentada (p = 0,08). Essa tendência é presumível, pois o complexo Hp2-2-Hb, por causa do maior tamanho e da estrutura mais complexa, atravessa mais lentamente a barreira endotelial para alcançar os espaços extravasculares do que os complexos Hp1-1-Hb e Hp2-1-Hb. Assim, pacientes Hp2-2 podem estar mais expostos aos eventos oxidativos, o que poderia levar a alterações estruturais no parênquima renal e maior tendência de desenvolvimento de insuficiência renal. **Conclusão:** Os genótipos de Hp podem influenciar a taxa de filtração glomerular com o aumento da idade dos pacientes. Estudos futuros deverão investigar esse parâmetro por métodos mais precisos para avaliação da função renal, como o clearance do Cromo-EDTA, em um grupo maior de pacientes. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

59. EXPRESSÃO DE MICRORNAS E CITOCINAS EM GRANULÓCITOS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME SUBDIVIDIDOS DE ACORDO COM O GENÓTIPO DA HAPTOGLOBINA

Santos MNN^a, Ferreira RA^b, Albuquerque DM^b, Oliveira RTD^a, Bezerra MAC^c, Lanaro C^b, Araújo AS^d, Costa FF^b, Blotta MHSL^a, Sonati MF^a

^a Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^c Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^d Hemocentro de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é caracterizada por um estado inflamatório crônico, com resposta imune bastante variável e dependente de múltiplos fatores genéticos e ambientais. A haptoglobina (Hp) é uma proteína de fase aguda positiva com capacidade imunomodulatória e antioxidante, cuja função primordial é se ligar à hemoglobina livre no plasma e proteger os vasos dos seus efeitos oxidativos. Dois alelos codominantes, HP1 e HP2, resultam em três genótipos/fenótipos principais, Hp1-1, Hp2-1 e Hp2-2, que correspondem a proteínas com propriedades estruturais e funcionais distintas. Os microRNAs (miRNA) são moduladores pós-transcricionais da expressão gênica e seu papel tem sido investigado na infecção, inflamação, diferenciação e proliferação celular e apoptose. **Objetivo:** Investigar o perfil de expressão dos miRNAs-155, 451 e 144 em granulócitos e avaliar as dosagens plasmáticas das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α de pacientes com AF subdivididos em três grupos de acordo com o genótipo da Hp (Hp1-1, Hp2-1 e Hp2-2). **Material e métodos:** Foram avaliados 36 pacientes adultos em estado estável, 12 de cada categoria genotípica de Hp, determinada por PCR alelo-específica. Os níveis plasmáticos das citocinas foram determinados por Elisa e o perfil de expressão dos miRNAs por q-PCR. **Resultados:** A taxa de expressão do miRNA-155 em granulócitos de pacientes com o genótipo Hp1-1 foi maior do que aquela encontrada em pacientes Hp2-1, que, por sua vez, foi maior do que a encontrada em pacientes Hp2-2. A diferença entre as categorias Hp1-1 e Hp2-2 atingiu significância estatística (p = 0,002). Interessantemente, as dosagens plasmáticas de TNF- α foram maiores no

grupo Hp1-1 do que nos demais, sem, no entanto, atingir significância. Por outro lado, a expressão dos miRNAs 144 e 451 e os níveis plasmáticos de IL-1 β , IL-6 e IL-8 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação aos diferentes genótipos da Hp. **Discussão:** O miRNA-155 está envolvido na diferenciação eritroide e também desempenha papel relevante na inflamação e na imunidade; entretanto, os dados sobre a expressão dessas moléculas na AF são escassos. Ele tem sido considerado importante na ativação inflamatória das células mielóides humanas; sua superexpressão em células CD14⁺ do sangue periférico conduz à *down-regulation* do SHIP-1, um inibidor da inflamação, e ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-6 e TNF- α . **Conclusão:** O miRNA-155, associado ao genótipo da Hp, pode desempenhar um papel significativo na resposta inflamatória dos pacientes com AF. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

60. USE OF SANGUINATE TO TREAT THE COMORBIDITIES OF SICKLE CELL DISEASE (SCD) AND ISCHEMIA

Misra H

Prolong Pharmaceuticals, South Plainfield, United States

Patients with SCD suffer from many comorbidities due to the ongoing pathology of ischemia and hemolysis resulting in hypoxia, extensive inflammation, reactive oxygen species formation, and up-regulation of adhesion molecules. PEGylated carboxyhemoglobin bovine (SANGUINATE™) is under clinical development worldwide to treat SCD complications. It acts as a carbon monoxide releasing molecule and oxygen transfer agent. SANGUINATE™ is comprised of three functional components that act synergistically to inhibit vasoconstriction, deliver oxygen, increase oncotic pressure, and provide the therapeutic benefits of carbon monoxide. SANGUINATE™ was evaluated in a randomized Phase I single-blind, placebo-controlled study in 24 healthy volunteers in Australia. There were no clinically meaningful safety findings following the single intravenous infusion of it in all dose groups. It was also evaluated in Phase 1b studies (Columbia and Panama) in stable SCD patients. The study enrolled 24 patients who were randomized to receive hydroxyurea or SANGUINATE™ (160 or 320 mg/kg). This study is complete and the data is under analysis. To date, three patients with various comorbidities of SCD and hemoglobin levels below 3 g/dL have been treated with multiple doses of SANGUINATE™ under US FDA approved emergency INDs. Despite persistently low hemoglobin levels, improvements in symptoms were seen in all patients following administration of SANGUINATE™, with no evidence of drug-related adverse events. In each case, the attending physician attributed the improvement in the patient's symptoms to the treatment with SANGUINATE™. The first patient was admitted with SCD crisis and was in near-comatose condition. Following SANGUINATE™ administration, the patient was more alert with improved brain oxygenation (increasing from high 40s to the mid to upper 60s) and responded to questions. The patient's condition continued to decline, and a second dose was administered, but with poor response. The second patient was admitted with acute chest syndrome. A total of three doses were administered, and the patient was successfully extubated. Over the course of treatment, the patient had improved cardiac, pulmonary, and renal function. Despite a hemoglobin count of 3.1, she reported improvement in dyspnea upon extubation. Her blood flow velocity, determined by transcranial Doppler, normalized following SANGUINATE™ infusion. Improvement in C-reactive protein levels was also observed. A third patient suffering from hyperhemolysis was also treated; however data on this patient cannot be currently disclosed. This patient received multiple doses and was successfully discharged from the hospital. Due to its multiple mechanisms of action, SANGUINATE™ has potential use in a broad range of indications characterized by hypoxia. SANGUINATE™ has shown signs of therapeutic effect in SCD that warrant more in-depth clinical investigation. A phase II multicenter study was approved with the US FDA for the treatment of vaso-occlusive crisis in patients with SCD. Phase II leg ulcers study with weekly dosing is under review by the US FDA. A phase II trial has also been approved for the reduction or prevention of delayed cerebral ischemia following subarachnoid hemorrhage in the USA and for β -thalassemia in Thailand.

61. PERFIL DOS PARÂMETROS DE HEMÓLISE E ASSOCIAÇÃO COM OS HAPLÓTIPOS HBB* S EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME EM ESTADO BASAL

Lemes RPG, Moreira JA, Machado RPG, Laurentino MR, Gonçalves RP, Bandeira ICJ, Rocha LBS, Souza IP, Arruda ABL, Dutra LLA, Machado CMG, Ponte MF, Santos TEJD

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

Introdução: A anemia falciforme (AF) resulta da homozigose da hemoglobina S e leva à hemólise e à vaso-oclusão. A importância da hemólise induzida pela deficiência de óxido nítrico (NO) em contribuir diretamente para vasculopatia é controversa, com a maioria das evidências que envolvem associações com biomarcadores. Arginina é catabolizada a ornitina e ureia, pela arginase, e reduz a sua disponibilidade para a síntese de NO. Hemácias falciformes contêm altos níveis de atividade da arginase, que é liberada no plasma por hemólise. Por isso, os níveis de arginase podem estar intimamente relacionados com outros marcadores de hemólise, como desidrogenase láctica (LDH). Os diferentes haplótipos da anemia falciforme estão relacionados com os variados sintomas clínicos e níveis de HbF. O haplótipo Senegal está associado a níveis elevados de HbF e um curso clínico menos grave da doença; o haplótipo Benin está associado a níveis de HbF moderados e um curso intermediário; o haplótipo República Centro-Africana ou Bantu é associado a baixos níveis de HbF e um mais sério quadro clínico; e o haplótipo árabe-indiano está associado a níveis elevados de HbF e curso clínico heterogêneo. **Objetivo:** Avaliar se os haplótipos da AF influenciam nos biomarcadores do metabolismo do NO e hemólise. **Material e métodos:** Foram selecionados 50 pacientes com AF e idade ≥ 18 anos em tratamento ambulatorial em um hospital de referência em Fortaleza (CE), confirmados por diagnóstico molecular, em uso de HU havia pelo menos seis meses. Idade e sexo pareados de 20 doadores de sangue foram usados como controle (HbAA). A contagem de reticulócitos foi feita por metodologia automatizada; LDH e ácido úrico, por espectrometria, e arginase I, por Elisa. A detecção da presença de HbS e a análise de haplótipos de genes da globina beta S foram feitos por reação em cadeia da polimerase-restrição do comprimento do fragmento (PCR-RFLP). As análises estatísticas foram feitas pelo programa GraphPad Prism (versão 5.0); o nível de significância foi $p < 0,05$. **Resultados:** Foi observado aumento significativo na contagem de reticulócitos, ácido úrico e arginase I ($p < 0,0001$) e nos níveis de LDH ($p = 0,0024$), em pacientes com AF, em comparação com o grupo controle. A comparação entre os níveis séricos médios de arginase I em três grupos de haplótipos mostrou uma diferença significativa entre o Bantu/Bantu x Benin/Benin ($p < 0,001$). Não houve diferença significativa entre a contagem de reticulócitos, LDH e ácido úrico em comparação com genótipos de haplótipos de AF. **Conclusão:** A arginase pode ser usada como biomarcador de gravidade da doença.

62. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA EM PACIENTES ADULTOS COM DOENÇA FALCIFORME ATENDIDOS NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DE BOTUCATU. RELATO DOS RESULTADOS INICIAIS DE GRUPO DE TRABALHO MULTIDISCIPLINAR

Tagliaferro AC^a, Martinelli TC^a, Oliveira JMZP^a, Junior JAA^a, Rosa JR^b, Garzesi GGP^b, Teixeira MS^b, Hokama POM^b, Roscani MG^b, Hokama NK^b

^a Faculdades Unidas de Botucatu (UNIFAC), Botucatu, SP, Brasil

^b Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Introdução: Os episódios dolorosos, seja nas crises de falcização ou no cotidiano dos pacientes com doença falciforme, são um dos aspectos mais nocivos no dia a dia. Em conjunto com outras manifestações da doença, como a anemia, a desnutrição e o componente inflamatório característico, podem restringir a atividade física e influenciar negativamente na qualidade de vida. **Objetivo:** Com o intuito de avaliar e propor atividades e exercícios físicos cotidianos para esses pacientes e contribuir para uma melhoria da qualidade de vida, foi estabelecido um grupo de trabalho multidisciplinar, composto por psicóloga, hematologistas, cardiologistas e pediatras do Hospital das Clínicas de Botucatu e professores e estudantes de educação física das Faculdades Associadas de Botucatu. As ações consistiram em entrevistas, orientações e ações educativas em sala de espera e, numa fase seguinte, na prescrição de exercícios físicos. Neste trabalho, relatamos as primeiras conclusões.

Material e métodos: O estudo foi feito no Ambulatório de Hemoglobinopatias, Talassemias e Anemias Hemolíticas do Hospital das Clínicas de Botucatu. Fez-se estudo descritivo, por meio de entrevista orientada por questionário semiestruturado para pacientes adultos portadores de doença falciforme, durante o período em que aguardavam a consulta ou a liberação dos resultados laboratoriais e de conduta médica. A equipe constituiu-se de uma psicóloga, um professor e duas alunas de educação física. Foram entrevistados seis pacientes, quatro com anemia falciforme e dois com dupla heterozigose anemia falciforme – beta-talassemia. **Resultados:** Entre os dados mais significativos, destacamos o uso cotidiano de bicicleta para mobilidade urbana pelos cinco pacientes entrevistados e, no caso de uma paciente, como atividade rotineira de exercício físico. **Conclusão:** Essa característica pode ser peculiar em nossa casuística pelo fato de diversos pacientes morarem em cidades pequenas do interior paulista e deverá ser usada para orientação futura para prática de exercício físico.

Referência:

Buchowski MS, Townsend KM, Williams R, Chen KT. Patterns and energy expenditure of free-living physical activity in adolescents with sickle cell anemia. *J Pediatr.* 2002;140(1):86-92.

63. NOVA MUTAÇÃO EM C3 QUE CAUSA SÍNDROME HEMOLÍTICO-URÊMICA ATÍPICA TRATADA COM SUCESSO COM ECULIZUMAB

Guerra JCC, Junior CGC, Campregher PV, Galvao TFG, Santos OFPD, Santos BFCD, Rizzo LV, Ferreira FM, Silveira MP, Korkeas H

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A síndrome hemolítica urêmica atípica (SHUa) em geral não está associada a sinais de diarreia infecciosa, pode ser classificada como esporádica ou familiar e ambas as condições estão associadas a anomalias do complemento, mais especificamente com a desregulação da via alternativa do complemento. A SHUa familiar é causada, na maioria das vezes, por um ganho de mutações de função em ativadores de complemento ou mutações de perda de função em reguladores do complemento. Entre outros, os genes comumente mutados em uma SHU são CFH, C3, CFB, MC etc. **Objetivo:** Descrever uma nova mutação no C3 presente em um paciente com SHUa familiar e o sucesso do tratamento dessa paciente com o inibidor do complemento Eculizumab. **Relato de caso:** E.P.G., 40 anos, sexo feminino, deu entrada no pronto-socorro com cefaleia e anasarca. No exame físico apresentava-se com hipertensão arterial e palidez cutâneo-mucosa. Os exames laboratoriais revelaram insuficiência renal, anemia e plaquetopenia. Não apresentava antecedentes de infecções. A primeira hipótese diagnóstica foi de púrpura trombocitopênica trombótica, e foram iniciados plasmáfereze e hemodiálise. Recebeu alta 40 dias depois com melhora clínica. Uma semana após a alta, ela foi admitida em nosso hospital com recorrência do quadro clínico. Os exames de sangue na admissão revelaram hemoglobina 7,8 g/dL, contagem de plaquetas = 70.000/uL, LDH = 1.024 U/L, creatinina = 4,19 mg/dL, atividade ADAMTS13 = 79%, C3 = 29,5 mg/dL, C4 = 16,2 mg/dL e fator H = 212 ug/mL. A paciente relatava mãe falecida aos 44 anos por insuficiência renal aguda e cinco tias falecidas por problemas renais antes dos 50 anos. Reiniciados plasmáfereze e hemodiálise e iniciado Rituximab 375 mg/m² semanal. Depois de uma resposta clínica inicial, recaiu com anemia, plaquetopenia e DHL alto. Nesse momento, foi feita hipótese de SHUa, solicitado sequenciamento de C3 e iniciada terapia com Eculizumab. Ela recebeu 900 mg de Eculizumab durante quatro semanas e manutenção de 1.200 mg a cada duas semanas. Apresentou melhora progressiva após a primeira dose e, após a terceira, já não apresentava mais necessidade de hemodiálise com creatinina sérica = 2,1 mg/dL, hemoglobina = 7,11 g/dL, contagem de plaquetas = 262.000/uL e LDH = 1024 U/L. **Resultados:** Atualmente, seis meses após a alta, permanece em remissão de sua doença, com contagens normais no sangue periférico e creatinina sérica de 1,6 mg/dL, e recebe manutenção com Eculizumab na dose de 1.200 mg duas vezes por mês. O sequenciamento de C3 revelou mutação em heterozigose no exon 6, c.640 C > T (p.Pro214Ser). Uma vez que essa variante não foi anteriormente descrita na literatura, foi feita uma análise *in silico* com o *software* Polyphen2, e o resultado foi provavelmente patogênico. **Discussão:** Relamos um caso de uma paciente com SHUa que apresenta uma nova mutação em C3. Pelo menos 47 mutações no C3 foram descritas no banco de dados FH-SHUa (<http://www.fh-hus.org/>) e abrangiam quase toda a sequência do gene (a partir de Lys65 para Val1658). **Conclusão:** A mutação descrita aqui é nova e novos estudos para caracte-

rizar as suas consequências são necessários. Mas a história familiar muito forte, junto com a evolução clínica da paciente, a análise de proteínas *in silico* e a resposta completa ao Eculizumab, sugere fortemente que essa variante é patogênica e pode ser usada como um indicador da resposta ao Eculizumab.

64. INTERFERÊNCIA DA HEMOGLOBINA S NA QUANTIFICAÇÃO DE HB A₂ POR HPLC: COMPARAÇÃO ENTRE OS EQUIPAMENTOS AUTOMATIZADOS VARIANT (BIO-RAD) E ULTRA2 (TRINITY BIOTECH).

Salvarani M, Okumura JV, Silva DGH, Belini-Junior E, Bonini-Domingos CR

Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A doença falciforme (DF) é caracterizada pela presença da hemoglobina S (Hb S) e é a mais comum entre as Hb variantes. Essa Hb pode ser encontrada em interação com outras hemoglobinas variantes, bem como com as talassemias. Seu diagnóstico consiste em testes clássicos e complementares, os quais permitem a identificação de mutantes de hemoglobinas, além da quantificação de Hb normais e alteradas. O método mais usado para a quantificação das frações de Hb é a cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Porém, muitos estudos mostram que subfrações de Hb podem coeluir no mesmo tempo de retenção (RT) de outras e dificultar o diagnóstico. É o que ocorre com subfrações de Hb S que são coeluídas com a Hb A₂. **Objetivo:** Analisar a interferência da Hb S na quantificação de Hb A₂ em pessoas com DF em dois sistemas de HPLC: Variant (BIO-RAD®), com kit de análise β -Thal Short, e Ultra 2 (Trinity Biotech®), com kit de análise Genesys (em modo High Resolution, que garante melhor separação dos picos de Hb). Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão. Para dados paramétricos, usamos teste t pareado e, para não paramétricos, Wilcoxon. Valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. **Material e métodos:** Análises de 27 amostras de sangue de pessoas com DF, 11 com Hb SS e 16 com Hb AS. O valor médio de Hb A₂ no grupo SS foi de $4,07\% \pm 0,77$ (2,9%-4,9%) no Ultra 2 e de $2,28\% \pm 1,30$ (0%-3,7%) no Variant, com diferença significativa ($p = 0,0033$). **Resultados:** O grupo AS apresentou média de $4,09\% \pm 0,46$ (3,4%-5,3%) no Ultra 2 e de $2,86\% \pm 0,50$ (2%-3,5%) no Variant, com diferença significativa ($p = 0,0000001$). A concentração de Hb A₂ diferiu no mesmo grupo quando avaliados os valores dos diferentes equipamentos. Os valores maiores referiram-se à dosagem feita no Ultra 2. Estudos mostram que a presença de Hb S pode aumentar falsamente o valor de Hb A₂ em HPLC, porque a Hb S sofre modificações e forma subfrações que eluem no mesmo RT que Hb A₂, além da Hb S glicada (Hb S_{1c}). O HPLC Ultra 2 apresenta maior especificidade em relação ao Variant, porém, mesmo em High Resolution, não foi possível separar com precisão as subfrações de Hb S, as quais, sendo muito semelhantes a Hb A₂, coeluíram no mesmo RT. **Conclusão:** São necessários mais estudos para quantificar a influência das subfrações de Hb S no valor de Hb A₂, a fim de obter o valor correto dessa Hb a partir do valor fornecido pelo equipamento. Mesmo que a precisão dos equipamentos seja alta, a quantificação imprecisa de Hb A₂ pode dificultar o diagnóstico de uma possível interação entre Hb S e beta-talassemia e demanda atenção na interpretação dos resultados fornecidos por HPLC.

65. ANÁLISE DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DAS CITOCINAS EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME NO NORDESTE DO BRASIL

Lemes RPG, Cavalcante JEA, Santos TEJD, Ponte MF, Costa CB, Queiroz JAN, Freitas MVC, Figueiredo MF, Frota CC, Machado CMG, Barbosa MC, Bandeira ICJ, Goncalves RP

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

Introdução: Anemia falciforme (AF) é causada por uma mutação circunstancial que leva à substituição de valina por ácido glutâmico na sexta posição da cadeia beta globina. O curso clínico de pacientes com AF é tipicamente variável, de modo que os diferentes fatores atuam por meio da modulação da gravidade da doença. **Objetivo:** Determinar a frequência de polimorfismos em genes de citocinas TNF- α , IFN- γ , TGF- β , IL-6 e IL-10 em pacientes com AF comparados com controles saudáveis. **Material e métodos:** Participaram do estudo, de março de 2011 a julho de 2012, 38 pacientes adultos com diagnóstico molecular de AF, de ambos os sexos,

atendidos no Centro de Hematologia do Ceará. Um grupo controle foi composto por 90 indivíduos saudáveis (HbAA) pareados por idade e sexo. A extração de DNA foi feita com o kit da GFX Genomic Sangue DNA Purification (GE Healthcare) e a tipagem de polimorfismos de genes de citocinas com o kit Cytgen (One Lambda Inc. Canoga Park, CA, EUA). A análise das frequências dos polimorfismos foi feita com o teste exato de Fisher. **Resultados:** O genótipo L/L do TNF- α (-380) foi mais comum em pacientes e controles (81,6% e 78,9%, respectivamente), enquanto o genótipo A/A foi menos frequente (0% e 1,1%, respectivamente) ($p > 0,999$). O genótipo do TGF- β códon (10/25) foi mais frequente em pacientes do grupo de controle, como T/CG/G (39,5% e 38,6%, respectivamente); o genótipo T/TG/G foi observado em 13,2% dos pacientes com anemia falciforme e em 36,4% dos indivíduos do grupo controle. Assim, houve uma tendência para o grupo de pacientes com AF ter a menor frequência do genótipo T/TG/G em comparação com o grupo controle. Os genótipos de IFN- γ (874) tipificados em pacientes com AF e o grupo controle mostraram que o genótipo T/A foi mais comum tanto em pacientes quanto nos controles (52,6% e 56,7%, respectivamente). O genótipo menos frequente em ambos os grupos foi o T/T: foi observado em 10,6% dos pacientes com AF e 8,9% no grupo controle ($p = 0,693$). A classificação dos genótipos de IL-6 (-174) em pacientes com AF e o grupo controle mostrou que, em ambos os grupos, o genótipo mais frequente foi o G/G, presente em 73,7% dos pacientes e 50% do grupo controle, com diferença entre os grupos ($p = 0,04$). Com relação à frequência de genótipos de IL-10 (-1082, -819, -592) em pacientes com AF e o grupo controle, os genótipos ACC/ATA e GCC/ATA foram mais frequentemente observados em pacientes (23,7%), enquanto no grupo controle os genótipos GCC/ACC, GCC/ATA e GCC/GCC mostraram a mesma frequência (20,9%). Em ambos, pacientes e controle, o genótipo ACC/ACC foi menos frequente (5,3% e 5,8%, respectivamente). Assim, não houve diferenças estatísticas entre os genótipos nos grupos de pacientes e controle ($p = 0,538$). **Conclusão:** A diferença na frequência do genótipo L/L para o IL-6 (-174) na AF pode ser associada com a fisiologia da doença.

66. HAPLÓTIPOS DO CLUSTER DA S-GLOBINA EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO NO TRIÂNGULO MINEIRO, MINAS GERAIS

Leal AS^a, Martins PRJ^{a,b}, Pereira GA^a, Balarin MAS^a, Souza HM^a, Silva SS^{a,b}

^a Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brasil

^b Hemocentro Regional de Uberaba, Fundação Hemominas, Uberaba, MG, Brasil

Introdução: Os diferentes haplótipos da anemia falciforme (AF) podem estar relacionados com níveis de hemoglobina fetal (HbF) variáveis e, consequentemente, com um quadro clínico também variado. Os haplótipos Senegal e árabe-indiano estão associados a níveis elevados de HbF ($> 15\%$) e um curso mais brando da doença; já o Benin e Camarão, a níveis medianos de HbF (5% a 15%) e um curso clínico intermediário; o haplótipo Bantu ou CAR apresenta níveis diminuídos de HbF ($< 5\%$) e quadro clínico mais grave. **Objetivo:** Determinar a frequência dos haplótipos de pacientes com AF e sua correlação com o perfil clínico-hematológico. **Material e métodos:** Estudo descritivo e retrospectivo com a leitura dos prontuários e um estudo transversal de corte para a análise molecular, com a técnica de PCR-RFLP, com as endonucleases de restrição Xmn I, Hind III, Hinc II e Hinf I para análise de seis sítios polimórficos do cluster da globina β^s de 61 pacientes com anemia falciforme (SS). **Resultados:** Os genótipos encontrados foram: CAR/CAR (50,8%), CAR/BEN (13,1%), CAR/CAM (1,6%), CAR/ATP (13,1%), BEN/BEN (13,1%), BEN/ATP (4,9%) e ATP/ATP (3,3%), achados esses compatíveis com os encontrados por Cabral et al. (2010), com 58,5% para o CAR/CAR e 16,9% para o CAR/BEN. Dos cromossomos analisados, 64,8% foram do tipo CAR, 22,1% BEN, 12,3% ATP e 0,8% CAM. Achados esses similares aos descritos em diferentes regiões do Brasil. Um estudo feito em Ribeirão Preto (SP) revelou predomínio do haplótipo CAR (66,2%) em relação ao BEN (23%) (Zago et al., 1992). Na comparação múltipla dos níveis médios de hemácias, hemoglobina, hematócrito, plaquetas e hemoglobina fetal entre os sete grupos de genótipos obtidos, apenas os níveis médios de HbF apresentaram diferença estatisticamente significativa. Quando comparamos o nível de hemoglobina fetal entre os diferentes genótipos, observamos que o CAR/CAR foi o de menor valor e está estatisticamente significativo quando comparados ATP/ATP ($p^* = 0,03$), BEN/ATP ($p^* = 0,0006$) e CAR/BEN ($p^* = 0,0001$). Não observamos associação entre os

diferentes genótipos e as manifestações clínicas (crise vaso-oclusiva, úlcera de perna, acidente vascular cerebral, litíase biliar, síndrome torácica aguda, sequestro esplênico, insuficiência aguda, histórico de transfusão e de internação). **Conclusão:** Como a maioria dos relatos nacionais, o haplótipo CAR foi o predominante, seguido do BEN. Em relação a associações entre os perfis clínico/hematológico, apenas a HbF mostrou valores médios com diferenças significativas entre os sete grupos de genótipos. Foi observada maior frequência de ocorrências clínicas nos pacientes que têm um ou dois cromossomos CAR. Este foi o primeiro trabalho feito no Triângulo Mineiro e pode contribuir para a determinação do fluxo da globina β^F no Estado de Minas Gerais, além de servir como possível instrumento para estudos antropológicos sobre a origem dos africanos em nosso estado e País. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

67. POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DOS FATORES DE TRANSCRIÇÃO PAX1 E YY1 NA REGULAÇÃO DO GENE HBG1 NA PERSISTÊNCIA HEREDITÁRIA DE HEMOGLOBINA FETAL DO TIPO BRASILEIRA

Braghini CA, Santos AD, Lanaro C, Albuquerque DM, Roversi FM, Costa FF

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

Introdução: A persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF) é uma condição caracterizada pela síntese elevada de γ -globina e, portanto, de hemoglobina fetal (HbF) durante a vida adulta. A PHHF não deletional (ndPHHF) tipo brasileira é caracterizada pela substituição de uma citosina por uma guanina na posição -195 do promotor do gene HBG1 e resulta no aumento dos níveis de HbF (de 3% a 20%) em indivíduos heterozigotos. A HbF é um importante modificador genético do fenótipo de pacientes com as principais hemoglobinopatias- β : anemia falciforme e talassemia- β . **Objetivo:** Elucidar as vias envolvidas na ativação da expressão dos genes HBG1 e HBG2 por terapia medicamentosa ou gênica. Muitos estudos têm demonstrado o papel de fatores de transcrição estágio-específicos no *switching* de hemoglobina e indicado o potencial uso terapêutico desses fatores de transcrição para o tratamento de hemoglobinopatias- β . Estudos anteriormente feitos por nosso grupo de pesquisa indicaram que a presença da mutação C > G na posição -195 do promotor do gene HBG1 interrompe o sítio de ligação do fator de transcrição YY1 e cria um novo sítio de ligação ao PAX1. Assim, os ensaios de duplo repórter e imunoprecipitação de cromatina (ChIP) foram empregados para melhor explorar o envolvimento desses fatores de transcrição na regulação do gene HBG1. **Material e métodos:** Para o ensaio de ChIP, foram usados cultura de células primárias CD34⁺ de indivíduos controle e portadores da mutação -195 C > G no gene HBG1 e os kits Magna ChIP™A/G Chromatin Immunoprecipitation Kit e qRT-PCR com pares de *primers* com e sem a mutação, desenhados especificamente para a região promotora (posição -144 a -270) do gene HBG1. **Resultados:** YY1 foi cerca de oito vezes mais recrutado no promotor do gene HBG1 nas amostras controle comparado com as de ndPHHF. Por outro lado, PAX1 foi 80 vezes mais recrutado no promotor do gene HBG1 nas amostras de ndPHHF comparado com as de indivíduos controle. Nos ensaios de duplo repórter, construções clonadas no vetor pGL4.17[luc2/Neo] com fragmentos de parte da região promotora do gene HBG1 (região -320 a -6) com ou sem a mutação -195 C > G (MUT e CTRL, respectivamente) e com mutação -195 C > G mais a mutação no sítio putativo de ligação ao fator de transcrição PAX1 (MUT_PAX1) foram usadas para transfecção em células da linhagem K562. O gene repórter (luciferase) foi significativamente mais expresso nas células transfectadas com o vetor MUT do que com o vetor CTRL ($p < 0,005$; $n = 3$). A partir desse resultado, foi possível avaliar o nível de expressão do gene repórter nas células transfectadas com o vetor MUT_PAX1 e verificou-se a expressão significativamente menor ($p < 0,05$; $n = 3$) quando comparada com as células transfectadas com vetor MUT. Os resultados obtidos sugerem que a mutação -195 C > G pode interferir na afinidade de ligação desses dois fatores de transcrição com a região promotora do gene HBG1 e que YY1 pode atuar como repressor e PAX1 como indutor da transcrição do gene HBG1. **Conclusão:** Este estudo poderá contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na regulação do gene HBG1 e auxiliar no desenvolvimento de novas terapias para hemoglobinopatias- β baseadas na reativação desse gene.

68. DEMONSTRAÇÃO DO PAPEL DO HEME NA ATIVAÇÃO DA COAGULAÇÃO ATRAVÉS DE TESTES GLOBAIS DA HEMOSTASIA

Souza GR^a, Fiusa MML^a, Lanaro C^a, Colella MP^a, Montalvão SAL^a, Olalla-Saad ST^a, Costa FF^a, Traina F^b, Annichino-Bizzacchi JM^a, Paula EV^a

^a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil
^b Universidade de São Paulo (USP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Há cerca de 50 anos sabe-se que pacientes com anemia falciforme (AF) apresentam maiores concentrações plasmáticas de heme livre. Recentemente, foi demonstrado que o heme é capaz de ativar a resposta imune inata, desencadear resposta dependente de receptores Toll-like e envolver a expressão de vários genes pró-inflamatórios. Em consonância com esses achados, o papel pró-inflamatório do heme foi confirmado em diferentes modelos experimentais de AF e colocou esse metabólito como potencial desencadeante da oclusão microvascular e da síndrome torácica aguda. Tromboses micro e macrovasculares são características da AF, e o papel do heme na patogenia desses eventos foi recentemente sugerido pela demonstração de sua capacidade de induzir a expressão de fator tecidual (FT) em células endoteliais e monócitos. **Objetivo:** Demonstrar a relevância funcional da expressão desse achado por meio de marcadores clinicamente relevantes da coagulação. **Material e métodos:** A expressão do FT induzida pelo heme foi avaliada em células mononucleares de sangue periférico (PBMC) por meio de dois ensaios globais da hemostasia: tromboelastometria (TEM) e teste de geração de trombina (TGT). Sangue de voluntários saudáveis foi coletado em tubos de citrato de sódio ou heparina. A TEM foi feita em amostras de sangue total ($n = 10$) incubadas com 30 μ M do heme durante quatro horas, a 37°C. A coagulação foi ativada com CaCl₂. Como controle, as amostras dos mesmos indivíduos foram incubadas com salina ($n = 10$). O TGT foi feito em amostras de plasma duplamente centrifugadas, separadas a partir de sangue total estimulado com heme ou salina ($n = 16$). A coagulação foi ativada com FT (5pM) e fosfolipídios. A expressão de FT foi avaliada por qRT-PCR. Sangue heparinizado foi incubado com 30 μ M de heme ($n = 6$) ou salina ($n = 6$) por 24 horas. PBMC e neutrófilos foram então separados por centrifugação de gradiente de densidade (Ficoll). **Resultados:** A incubação do sangue total com 30 μ M de heme resultou numa potente indução de expressão de FT quando comparado com o controle de PBMC (AU) ($0,03 \pm 0,06$ vs $1,18 \pm 0,60$; $p = 0,03$). Não foi detectada expressão de FT em neutrófilos. A ativação da coagulação induzida pelo heme pode ser demonstrada por meio da TEM. O heme diminuiu significativamente o tempo de coagulação (seg) ($562,1 \pm 88,2$ vs $387 \pm 84,3$; $p = 0,002$) e a MaxV-t (tempo para a velocidade máxima) ($651,4 \pm 119,2$ vs $451,1 \pm 87,4$; $p = 0,002$), que são dois indicadores de hipercoagulabilidade. Nenhuma diferença pôde ser observada na área sob a curva da TEM. Um perfil de hipercoagulabilidade também foi observado no TGT. Mudanças estatisticamente significativas, compatíveis com a ativação da coagulação, foram observadas em parâmetros como: pico de trombina (aumentado), tempo para atingir a trombina (diminuição), índice de velocidade (aumento), período de retardamento (diminuição) e StarTail (diminuição) (todos $p < 0,05$). **Conclusão:** Esses resultados demonstram pela primeira vez que o heme, em concentrações semelhantes às observadas em pacientes com AF, é capaz de estimular não só a expressão do TF em PBMC, mas também de alterar o equilíbrio da coagulação para um estado de hipercoagulabilidade. Esses resultados fornecem um apoio adicional à hipótese de que o heme é um mediador-chave na trombose micro e macrovascular na AF e, possivelmente, em outras doenças hemolíticas.

69. PHOSPHODIESTERASE-9A INHIBITOR REDUCES BASAL TNF-ALPHA LEVELS AND MYELOPEROXIDASE ACTIVITY IN NEUTROPHILS OF PATIENTS WITH SICKLE CELL ANEMIA

Barbosa MC^a, Santos TEJD^a, Santos TND^a, Pedrosa AM^a, Elias DBD^a, Leal LKAM^b, Lopes AA^b, Sasahara GL^b, Goncalves RP^a

^a Laboratório de Pesquisa em Hemoglobinopatias e Genética das Doenças Hematológicas (LPHGDH), Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brazil

^b Centro de Estudos Farmacêuticos e Cosméticos (CEFAC), Departamento de Farmácia, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brazil

Hydroxyurea (HU) is the only drug used in the treatment of sickle-cell anemia (SCA) that induces the synthesis of fetal hemoglobin, reducing vaso-occlusion crisis and chronic inflammation. However, some studies suggest that HU has mutagenic effects. New therapeutic strategies have emerged for the purpose of elevating cyclic guanosine monophosphate (cGMP) levels by inhibition of phosphodiesterase, the enzyme responsible for its degradation, also allowing for the increase of the effects mediated by nitric oxide (NO). This study included 35 patients with a molecular diagnosis of SCA, which were divided into two groups according to the use of HU: SSHU (20 patients treated with HU) and SS (15 patients not treated with HU). The study included patients with absence of vaso-occlusive crises and infections in the last four weeks prior to the study, and absence of hospital admission in the last two to three days prior to study. A control group was formed by 20 healthy subjects with HbAA, confirmed by hemoglobin electrophoresis. Neutrophils from patients were isolated and treated with BAY 73-6691 at concentrations of 100, 10, 1.0 and 0.1 $\mu\text{g/mL}$. LDH release and MTT assays were performed to verify cell viability. The levels of tumor necrosis factor (TNF)-alpha activity and myeloperoxidase (MPO) were measured in cell supernatant by enzyme immunoassay and colorimetric assays, respectively. The results showed that only BAY 73-6691 at a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$ promoted significant LDH release, and that it decreased the viability of neutrophils in both groups of patients. The SS neutrophils showed basal TNF- α levels significantly elevated in relation to SSHU and control neutrophils. Treatment of SS neutrophils with BAY 73-6691 promoted significant reduction in the TNF- α levels at concentrations of 1 (7.98 \pm 0.68 pg/mL); 10 (6.61 \pm 0.82 pg/mL); and 100 (5.85 \pm 0.28 pg/mL) compared to non-treated neutrophils (10.85 \pm 1.7 pg/mL) ($p < 0.05$). Treatment of SSHU neutrophils with BAY 73-6691 significantly reduced TNF- α levels only in the concentration 100 $\mu\text{g/mL}$ (5.37 \pm 0.27 pg/mL) compared to untreated neutrophils (7.49 \pm 0.29 pg/mL) ($p = 0.01$). The SS neutrophils showed basal MPO activity significantly elevated in relation to SSHU and control neutrophils ($p < 0.05$). Treatment of SS neutrophils with BAY 73-6691 promoted significant reduction of MPO activity in concentrations of 10 (0.195 \pm 0.031) and 100 (0.200 \pm 0.027) $\mu\text{g/mL}$ in relation to untreated neutrophils (0.357 \pm 0.044) ($p < 0.05$). In SSHU neutrophils, treatment with BAY 73-6691 significantly reduced the MPO activity only in the concentration 100 $\mu\text{g/mL}$ (0.169 \pm 0.034) in relation to untreated neutrophils (0.27 \pm 0.02) ($p = 0.01$). The results of this study demonstrate that inhibition of phosphodiesterase-9A in neutrophils from SCA patients with BAY 73-6691 may be able to attenuate inflammatory process in neutrophils from patients not treated with HU. The effects of BAY 73-6691 seem to be associated with stimulation of the NO-cGMP pathway, similar to HU, since amplification of these effects on neutrophils treated with this drug was not observed. Furthermore, it was observed that this drug showed cytotoxicity at only the highest concentration tested, and that it is a possible therapeutic strategy, alternative to HU, in order to protect SCA patients from clinical events associated with chronic inflammation.

70. ESFEROCITOSE HEREDITÁRIA E SOBRECARGA DE FERRO

Lacerda MP, Silva AMF, Mecabo G, Goncalves LM, Figueiredo MS

Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Escola Paulista de Medicina (EPM), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A esferocitose hereditária (EH) é a doença congênita de defeito de membrana eritrocítica mais comum, com um caso a cada 2-3 mil nascimentos. De modo geral, a anemia tende a ser leve (20%) a moderada (70%), sem necessidade transfusional regular. Apesar desse fato, existem relatos esporádicos de portadores de EH com sobrecarga de ferro (Fe), muitos deles sem fatores etiológicos identificados, como a co-herança de hemocromatose hereditária. **Objetivo:** Avaliar o perfil do Fe em indivíduos com EH. **Material e métodos:** Avaliação retrospectiva do prontuário de pacientes em acompanhamento regular no Ambulatório de Anemias Hereditárias da EPM/UNIFESP, com diagnóstico de EH a partir de curva de fragilidade osmótica. O perfil do Fe foi avaliado por ferritina (ng/mL) e índice de saturação de transferrina (IST, %), na ausência de processo inflamatório/infeccioso. **Resultados:** Foram avaliados 18 pacientes, 14 mulheres e quatro homens, com mediana de idade de 40 (16-72). O valor médio de hemoglobina foi de 12 \pm 2,2 g/dL. Seis pacientes (33,3%) foram classificados como EH leve, e 12 (66,6%), EH moderada, e não houve casos graves. Onze mulheres apresentaram ferritina \geq 200, e três homens,

\geq 300, num total de 77%, com valores sugestivos de SF (Brissot et al., Blood Rev, 2008). A média de ferritina foi de 517,5 \pm 309,2, e a média de IST foi de 43,5 \pm 15,2%. De três pacientes testados, nenhum apresentou mutação no gene HFE. **Discussão:** Na população estudada, a despeito da limitação de tamanho da amostra, fica clara a possibilidade de ocorrência de SF sem relação com politransusão. A SF na EH é pouco avaliada, e estudos de cinética de Fe feitos nas décadas de 1970-80 determinaram aumento na taxa de transporte de Fe plasmático, bem como maior uso de Fe pelo eritrôn. Esses dados evidenciam a presença de alteração na cinética do Fe na presença de hemólise, que podem estar associados ao aumento de ferritina observado em nossos pacientes. **Conclusão:** Apesar de esses pacientes serem classificados como EH leve ou moderada, a presença de ferritina elevada sugere a necessidade de elucidação do metabolismo do Fe. Nesse contexto, faz-se necessário também determinar a importância da investigação de SF em órgãos-alvo, por meio de técnicas de ressonância nuclear magnética.

71. PODE-SE CONFIAR NO RITMO DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR, ESTIMADO PELA FÓRMULA DE SCHWARTZ, EM CRIANÇAS COM ANEMIA FALCIFORME?

Cruz SMP^a, Filho NS^b, Silva PR^b, Figueiredo MS^a

^a Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Escola Paulista de Medicina (EPM), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, MA, Brasil

Introdução: Uma das primeiras alterações renais evidenciadas na anemia falciforme (AF) é a hiperfiltração renal. Evidências sugerem que a hiperfiltração renal, independentemente de sua etiologia, leva a dano glomerular e resulta em esclerose glomerular, proteinúria e insuficiência renal progressiva. Na prática pediátrica, a fórmula de Schwartz (FS), calculada a partir da creatinina sérica, é usada para estimar o ritmo de filtração glomerular (RFG). A mensuração de cistatina C é mais fidedigna da avaliação da função renal do que a creatinina, e existe a possibilidade de determinação do RFG a partir dessa medida (FCis). Aygun et al. (Pediatr Nephrol, 2011), com medida direta do clearance por técnicas de medicina nuclear (^{99m}Tc-DTPA, padrão ouro), observaram média do RFG de 154 \pm 37 mL/min em 85 crianças com AF, com 76% dessas com RFG acima de 1DP. **Objetivo:** Avaliar a função renal em crianças com AF e comparar duas fórmulas de estimativa do RFG. **Material e métodos:** Foram avaliadas 132 crianças, 119 (90%) com AF e 13 (10%) com S β ⁰Talassemia, 69 (52%) do gênero feminino e mediana de idade de nove (1-18), acompanhadas no Ambulatório do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão de agosto de 2013 a julho de 2014. O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão e da EPM/UNIFESP. Feitos hemograma, creatinina sérica (mg/dL) e eletroforese de hemoglobina segundo técnicas padrão. Medida de cistatina (mg/L) por imunoturbidimetria, RFG por FS e por FCis. Valor normal de RFG para a faixa etária = 104 \pm 20 mL/min. Análise estatística: Mann-Whitney, Turkey e correlação de Spearman. **Resultados:** Média de creatinina = 0,37 \pm 0,12; média de cistatina = 0,84 \pm 0,10; RFG por FS = 225 \pm 109 e por FCis = 97 \pm 14,7. A comparação do RFG calculada por FS e FCis mostrou diferença estatística ($p < 0,05$). Além disso, observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de RFG (independente da fórmula) com o obtido com padrão ouro (Aygun et al.). Observou-se correlação fraca entre idade e creatinina (0,38, $p < 0,05$) e entre idade e RFG por FS (0,22, $p < 0,05$). Não foi observada correlação entre idade e cistatina, idade e FCis e entre creatinina e cistatina. **Discussão:** Embora se saiba que o meio hipertônico e a acidose da medula renal favorecem a falcização dos eritrócitos e o consequente dano hipóxico, a fisiopatologia da lesão renal ainda é pouco esclarecida. A cistatina é considerada uma medida mais acurada do RFG na população geral por apresentar forte correlação com os valores obtidos com o clearance com DTPA. Neste estudo, observamos que a cistatina manteve uma medida uniforme, independentemente da idade, diferentemente da creatinina, que aumentou com a idade. Os cálculos de RFG foram diferentes de acordo com a fórmula usada, e 96% das crianças foram consideradas como tendo hiperfiltração pela FS e apenas 3% pela FCis. **Conclusão:** Apesar de a cistatina ser melhor marcador de função renal do que a creatinina, as duas fórmulas usadas não refletem a função renal de crianças falcêmicas e reforçam a necessidade de melhores técnicas para avaliação dessa comorbidade.

72. PHOSPHODIESTERASE-9A INHIBITOR INCREASES THE BIOAVAILABILITY OF NITRIC OXIDE AND REDUCES OXIDATIVE STRESS IN NEUTROPHILS OF PATIENTS WITH SICKLE CELL ANEMIA

Barbosa MC^a, Santos TEJD^a, Filho PAM^a, Dutra LLA^a, Pedrosa AM^a, Elias DBD^a, Leal LKAM^b, Lopes AA^b, Goncalves RP^a

- ^a Laboratório de Pesquisa em Hemoglobinopatias e Genética das Doenças Hematológicas (LPHGDH), Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brazil
^b Centro de Estudos Farmacêuticos e Cosméticos (CEFAC), Departamento de Farmácia, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brazil

Sickle cell anemia (SCA) is an inherited anemia characterized by homozygous hemoglobin S and high rates of morbidity and mortality. Hydroxyurea (HU) is the only drug used in the treatment of SCA, by inducing the synthesis of fetal hemoglobin (HbF) and acting as a nitric oxide (NO) donor, reducing vaso-occlusion crisis and chronic inflammation. However, some studies suggest that HU may have mutagenic effects. New therapeutic strategies have emerged for the purpose of elevating the cyclic guanosine monophosphate (cGMP) levels by inhibition of phosphodiesterase, the enzyme responsible for its degradation, also allowing for the increase of the effects mediated by NO. The aim of the study was to investigate the cytotoxicity and possible antioxidant effects of BAY 73-6691, a selective inhibitor of phosphodiesterase-9A, in neutrophils from SCA patients. This study included 35 patients with a molecular diagnosis of SCA, which were divided into two groups according to the use of HU: SSHU (20 patients treated with HU) and SS (15 patients not treated with HU). The study included patients with absence of vaso-occlusive crises and infections in the last four weeks prior to the study, and absence of hospital admission in the last two to three days prior to the study. A control group was formed by 20 healthy subjects with HbAA. Neutrophils from patients were isolated and treated with BAY 73-6691 at concentrations of 100, 10, 1.0 and 0.1 µg/mL. LDH release and MTT assays were performed to verify cell viability. To evaluate the oxidative stress, the following parameters were determined by spectrophotometric assays: NO and malondialdehyde levels, and activity of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase). The results showed that only BAY 73-6691 at a concentration of 100 µg/mL promoted significant LDH release, and that it decreased the viability of neutrophils in both groups of patients. Furthermore, treatment with BAY 73-6691 was able to significantly reduce the levels of malondialdehyde, and increased the NO levels and the catalase and superoxide dismutase activities in patients not treated with HU. In patients treated with HU, these effects were observed only at the cytotoxic dose. The treatment with BAY 73-6691 did not alter the activity of glutathione peroxidase. The results of this study are novel and demonstrate that inhibition of phosphodiesterase-9A in neutrophils from SCA patients with BAY 73-6691 was able to increase the NO bioavailability and attenuate oxidative stress in neutrophils from patients not treated with HU. The effects of BAY 73-6691 seem to be associated with stimulation of the NO-cGMP pathway, similar to HU, since amplification of these effects on neutrophils treated with this drug was not observed. Furthermore, it was observed that this drug showed cytotoxicity only at the highest concentration tested, and that it is possible therapeutic strategy, alternative to HU, in order to protect SCA patients from clinical events associated with oxidative stress.

73. A UTILIZAÇÃO DA LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE EM PACIENTE COM ANEMIA HEMOLÍTICA COM ÚLCERA DE PERNA – RELATO DE CASO

Costa FCE, Rodriguês LR, Andrade CCT, Teixeira LRB, Almeida PSM
 Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (HEMOPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: As úlceras de perna são lesões decorrentes da isquemia gerada pela compressão extrínseca e prolongada da pele, dos tecidos adjacentes e dos ossos e constituem um problema relevante no cenário de atenção à saúde. Entre as formas de tratamento, temos o laser terapêutico, que não produz calor. Por isso, não causa dano às células e aos tecidos. A radiação laser de baixa intensidade torna-se terapêutica, por apresen-

tar efeito anti-inflamatório, analgésico e cicatrizante. **Objetivo:** Observar o efeito do tratamento da úlcera de perna, por meio do laser, em uma paciente com 67 anos e diagnóstico de anemia hemolítica autoimune. **Relato de caso:** Paciente apresentava uma úlcera no calcanhar esquerdo. A recuperação físico-funcional foi feita pelo aparelho caneta laser IR Photon de arseniato de gálio, com comprimento de onda de 950 nm, potência de 220 mw e tensão de 3V. Foi usada uma máquina fotográfica da Sanyo para registro da evolução clínica. O procedimento foi feito duas vezes por semana com a técnica pontual nas bordas da ferida, na qual a ponteira da caneta era coberta com papel filme PVC para proteção. **Resultados:** Após as 20 sessões, a paciente apresentou melhoria significativa da ferida, com um potencial de cicatrização evidente, conforme observado no resultado macroscópico por meio das fotos no decorrer das sessões. **Conclusão:** Verificou-se que a laserterapia de baixa intensidade tem grande eficácia no tratamento de úlceras de perna e se torna, assim, um grande aliado na recuperação tecidual nesse tipo de lesão, pois sugere que há um aumento do processo cicatricial por causa da diminuição da úlcera evidenciada por meio das fotos.

74. EFEITO ANTIOXIDANTE DA MELATONINA EM SUSPENSÃO DE HEMÁCIAS FALCIFORMES

Silva DGH^{a,b}, Junior OR^c, Almeida EA^b, Domingos CRB^a

- ^a Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas (LHGDH), Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (Ibilce), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil
^b Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática (LABCA), Departamento de Química e Ciências Ambientais, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (Ibilce), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil
^c Hemocentro de São José do Rio Preto, Departamento de Medicina, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) apresenta fisiopatologia complexa, diretamente relacionada com estresse oxidativo crônico e sistêmico. Por esse motivo, o estudo de novos agentes terapêuticos com propriedades antioxidantes pode constituir um valioso meio de prevenir ou retardar o desenvolvimento de complicações clínicas nos indivíduos com AF. **Objetivo:** Com base nas propriedades antioxidantes da melatonina (MEL), avaliar seu efeito sobre uma suspensão de hemácias falciformes. **Material e métodos:** O estudo foi conduzido em 11 indivíduos com AF, de ambos os gêneros e com a mesma faixa etária (20 a 40 anos), após consentimento informado. Cada amostra de sangue periférico teve as hemácias separadas e submetidas a cinco condições experimentais (CE): CE1 - suspensão celular com hematócrito a 10% e imediatamente processada para posterior análise; CE2 - suspensão celular (hematócrito a 10%) incubada por uma hora a 37°C, e de CE3 a CE5 - suspensões celulares (hematócrito a 10%) tratadas com MEL nas doses 100 pM, 100 nM e 100 µM, respectivamente, e incubadas pelo mesmo período. Os parâmetros bioquímicos foram avaliados por meio de métodos espectrofotométricos [grau de hemólise e atividade das enzimas catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPx), glutathione redutase (GR), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e superóxido dismutase (SOD)] e cromatográficos [níveis de peroxidação lipídica por meio da medida do malondialdeído (MDA) e de glutathione reduzida (GSH)]. **Resultados:** O período de exposição (uma hora) foi suficiente para aumentar o grau de hemólise em aproximadamente 60%, porém, não foi constatado qualquer efeito antioxidante sobre essa variável ($p < 0,01$, teste de Friedman). Em relação aos níveis de peroxidação lipídica, o período de exposição promoveu o aumento de cerca de duas vezes os níveis de MDA, porém, todas as doses testadas de MEL (CE3-5) exerceram efeito antioxidante eficiente e reduziram a peroxidação pela metade em relação a CE2 ($p < 0,01$, teste de Friedman). Entre os marcadores de capacidade antioxidante avaliados, foi observado efeito modulador do tratamento com MEL apenas na atividade da GPx. O grupo CE5 apresentou atividade cerca de 20% menor do que CE2 ($p < 0,01$, Anova para medidas repetidas). **Conclusão:** A MEL pode ser um alvo terapêutico promissor para o tratamento da AF e atuar como adjuvante na redução do estresse oxidativo. **Palavras-chave:** Anemia falciforme; estresse oxidativo; tratamento antioxidante. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) 140.911/2011-1, Ministério da Saúde (3.072/2007).

75. POSSÍVEIS INTERAÇÕES DE MICRORNAs E FATORES DE TRANSCRIÇÃO ASSOCIADOS AO AUMENTO NOS NÍVEIS DE HEMOGLOBINA FETAL

Freireira R, Lanaro C, Roversi FM, Albuquerque DM, Costa FF

Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Os níveis elevados de hemoglobina fetal (HbF) melhoram o quadro clínico das hemoglobinopatias. Dessa forma, estudos sobre persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF) podem auxiliar na compreensão dos mecanismos que regulam a expressão dos genes das globinas. A modulação do *switching* de hemoglobina envolve processos transcricionais e pós-transcricionais mediados por fatores de transcrição (FTs) eritroides e microRNAs (miRs), que regulam negativamente a expressão de seus alvos e impedem sua síntese proteica. Embora muitas dessas moléculas estejam relacionadas à diferenciação e à maturação eritroide, pouco se sabe sobre a interação miR-FT e sobre seu envolvimento na produção da HbF. **Objetivo:** Quantificar a expressão dos miRs 99a-5p, 146a-5p, 210 e 486-3p e dos FTs FOXO3, KLF1 e BCL11A e analisar as possíveis relações entre essas moléculas. **Material e métodos:** Foram selecionados indivíduos com PHHF não deletional tipo brasileira (ndPHHF -195 C > G, n = 7) e controles com perfil eletroforético e índices hematimétricos normais (CON, n = 7). A expressão gênica e de miRs foi avaliada por qPCR a partir de amostras de RNA extraídas de reticulócitos. As análises de predição *in silico* foram feitas com os *softwares* disponíveis RNAhybridv 2.1 e TargetScanHuman, v 6.2. **Resultados:** Diferenças estatisticamente significativas foram observadas na expressão dos miRs e FTs no grupo ndPHHF em relação ao CON: subexpressão do miR-99a-5p (p = 0,0003) e superexpressão dos miRs: 146a-5p (p = 0,001), 210 (p = 0,0379) e 486-3p (p = 0,01); ainda, diminuição dos FTs: KLF1 (p = 0,001) e BCL11A (p = 0,007) e aumento do FOXO3 (p = 0,017). Dois sítios de ligação para o miR-99a-5p no RNAm de FOXO3 foram preditos com o uso do *software* RNAhybrid (-28,3 e -25,6 kcal/mol). O FOXO3 é um FT descrito por regular positivamente a expressão do gene da globina γ e, de acordo com nossos resultados e considerando a possível interação miR-99a-5p-FOXO3, o aumento da expressão desse RNAm pode ser consequência da diminuição da expressão do miR-99a-5p observada no grupo ndPHHF. **Discussão:** Estudos anteriores relacionaram o aumento da expressão do miR-210 com estímulo da produção de HbF em células K562. Análises *in silico* identificaram duas possíveis interações do miR-210 e o KLF1 1m (-31,7 e -30,1 kcal/mol). O KLF1 é um importante regulador positivo do gene da globina β e, diante do que foi observado na ndPHHF, a superexpressão do miR-210 pode inibir a expressão desse FT, diminuir sua síntese proteica e favorecer a expressão continuada do gene da globina γ . Os miRs 486-3p e 146a-5p têm sítios de ligação na região 3'UTR de BCL11A, e essas interações podem resultar na redução da expressão desse FT e aumentar os níveis de HbF, o que sugere a atuação conjunta dessas moléculas na regulação do gene da globina γ . **Conclusão:** Os resultados obtidos implicam possíveis interações dos miRNAs avaliados e os FTs relacionados com a expressão dos genes das globinas β e γ . Dessa forma, os dados aqui apresentados podem contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos transcricionais e pós-transcricionais envolvidos na síntese das hemoglobinas, corroborar sua importância no processo hematopoético e possibilitar a identificação de novos alvos terapêuticos nas hemoglobinopatias, como a anemia falciforme e talassemia beta. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)/Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT).

76. INIBIÇÃO DA VIA DA RHO QUINASE REDUZ O PROCESSO INFLAMATÓRIO EM MODELOS DE INJÚRIA PULMONAR EM CAMUNDONGOS COM ANEMIA FALCIFORME

Pallis FR, Almeida CB, Zorzetto NC, Costa FF, Franco-Penteado CF

Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: As complicações pulmonares na anemia falciforme (AF) incluem síndrome torácica aguda, infecções e hipertensão pulmonar. Além das citadas acima, evidências sugerem que a asma predispõe várias complicações da AF e está associada com aumento da morbidade e mortalidade da doença. As Rho quinases (Rock) são proteínas que atuam como interruptores moleculares e controlam diversas funções celulares impor-

tantes, como a organização do citoesqueleto, adesão, proliferação e apoptose. Nos processos inflamatórios, estão envolvidas na migração celular e na produção de citocinas. **Objetivo:** Avaliar o efeito do tratamento com o inibidor de ROCK (Y-27632) em dois modelos de inflamação pulmonar em camundongos com AF. **Material e métodos:** Foram usados camundongos fêmeas C57BL6/1, que receberam medula óssea de camundongos transgênicos para AF modelo Berkeley (SS). No modelo experimental de asma, os animais foram sensibilizados e desafiados com OVA (10 μ g de OVA), duas vezes por dia, com intervalo de seis horas. No modelo de inflamação pulmonar aguda por LPS, os animais foram desafiados com 50 μ l LPS (250 μ g/mL). O inibidor de Rock, Y-27632, foi administrado (via i.p.) uma hora antes do desafio com OVA ou LPS. O lavado bronco alveolar (LBA) foi feito 48 horas após o primeiro desafio com OVA ou cinco horas após a instilação de LPS. Foi feita a contagem dos leucócitos no LBA. A concentração das citocinas e eotaxina (EOT) foi determinada por Elisa. **Resultados:** Após o desafio com OVA, os animais SS apresentaram aumento significativo na contagem total de leucócitos (LT), eosinófilos (EO) e neutrófilos (NE) quando comparados aos animais não sensibilizados (NS) (12,9 \pm 1,2 vs 5,1 \pm 0,4; 6,7 \pm 0,9 vs 0,01 \pm 0,008; 2,1 \pm 0,2 vs 1,1 \pm 0,2, $\times 10^6$ /mL, respectivamente). O desafio com OVA induziu um aumento significativo nos níveis IL-4, IL-5, IL-13 e EOT no LBA dos animais SS sensibilizados com OVA quando comparados com os NS (16,6 \pm 2,8 vs 2,4 \pm 1,7; 32,9 \pm 6,6 vs 0,71 \pm 0,4; 41,9 \pm 10,5 vs 1,44 \pm 0,3; 9,94 \pm 3,3 vs 1,37 \pm 0,9 pg/mL). O tratamento com o inibidor de Rock diminuiu significativamente o número de células no LBA dos animais SS (LT: 7,5 \pm 1,07; EO: 1,2 \pm 0,36; NE: 0,96 \pm 0,20; $\times 10^6$ /mL). Animais SS tratados com Y-27.632 apresentaram redução significativa nos níveis das citocinas IL-4, IL-5, IL-13 e da EOT no LBA (1,96 \pm 1,01; 11,5 \pm 1,7, 14,7 \pm 2,06, 1,9 \pm 1,2 pg/mL, respectivamente). Após cinco horas do desafio com o LPS, os animais SS apresentaram aumento do influxo de LT e NE no LBA quando comparados com os do grupo salina (LT: 9,3 \pm 2,9 vs 3,5 \pm 0,4; NS: 6,5 \pm 2,7 vs 1,8 \pm 0,4, $\times 10^6$ /mL, p < 0,05). Os animais SS que foram pré-tratados com Y-27632 apresentaram menor número de LT (1,9 \pm 0,2 $\times 10^6$ /mL) e NE (0,24 \pm 0,08 $\times 10^6$ /mL) no LBA. Os níveis de KC (1.446 \pm 66 pg/mL), MIP-2 (1.893 \pm 390 pg/mL) e TNF- α (396,9 \pm 68 pg/mL) no LBA dos animais SS foram significativamente reduzidos pelo tratamento com Y-27.632 (68 \pm 21,2; 394,3 \pm 208; 128,8 \pm 85,7, pg/mL; p < 0,05, respectivamente). **Conclusão:** Nossos resultados dão apoio ao conceito da existência de um estado inflamatório na anemia falciforme e indicam que a via Rho/Rock também contribui para esse processo. Este trabalho colabora para um melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia da AF e sugere a via da Rock como nova opção terapêutica para o tratamento da doença. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

77. ANÁLISE DA FUNÇÃO ERÉTIL EM CAMUNDONGOS TRANSGÊNICOS PARA HEMOGLOBINOPATIA S

Silva FH^a, Claudino MA^b, Franco-Penteado CF^a, Antunes E^c, Costa FF^a

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

^b Laboratório de Pesquisa Multidisciplinar, Universidade de São Francisco (USF), Bragança Paulista, SP, Brasil

^c Departamento de Farmacologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A etiologia da disfunção erétil é multifatorial e complexa e pode ser de origem orgânica, psicogênica ou a associação de ambas. Na disfunção erétil orgânica, as causas mais comuns são de origem vasculogênica. Pacientes que apresentam doença vascular estão predispostos a desenvolver disfunção erétil vasculogênica. A disfunção erétil resulta de alterações nos mecanismos relaxantes e contráteis do tecido erétil. Cerca de 30-45% dos homens com anemia falciforme apresentam episódios de priapismo isquêmico, e desses, 30% evoluem para a disfunção erétil. Entretanto, as alterações na função erétil de homens com anemia falciforme ainda são pouco exploradas e, até o momento, nenhum estudo relatou que homens com anemia falciforme apresentam disfunção erétil não associada ao priapismo. O modelo de camundongo transgênico para anemia falciforme Townes apresenta manifestações clínicas da anemia falciforme (anemia hemolítica, hematopoiese extracelular e hipóxia tecidual) que ocorrem em humanos com essa doença. Entretanto, nenhum estudo avaliou as alterações fisiopatológicas do corpo cavernoso no modelo para anemia falciforme Townes. **Objetivo:** Avaliar a função erétil desse modelo. **Material e métodos:** Foram usados camundongos da linhagem C57BL6 (controle) e Townes (Wu et al., Blood 2006) com três-quatro meses de idade.

Em camundongos anestesiados, o corpo cavernoso esquerdo foi canulado para o monitoramento da pressão intracavernosa (ICP) e as estimulações elétricas do nervo cavernoso foram feitas para obtenção das respostas eréteis. Para o estudo funcional *in vitro*, os corpos cavernosos foram montados em câmaras de incubação para órgão isolado. Em seguida, avaliou-se a resposta neurogênica contrátil e construiu-se curva frequência-resposta em corpos cavernosos previamente tratados por 30 minutos com L-NAME (30 μ M), inibidor não seletivo da óxido nítrico sintase, e atropina (1 μ M) para bloquear a resposta muscarínica. Avaliou-se também o relaxamento nitrérgico e construiu-se curva frequência-resposta em corpos cavernosos previamente tratados por 30 minutos com guanetidina (30 μ M) para depletar os estoques de noradrenalina e atropina (1 μ M). **Resultados:** As estimulações elétricas do nervo cavernoso produziram aumento da ICP dependentes da frequência em ambos os grupos. Entretanto, a ICP foi 37% menor no grupo anemia falciforme em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$). A resposta neurogênica contrátil foi 50% maior ($p < 0,05$) nos corpos cavernosos do grupo anemia falciforme em comparação com o grupo controle. O relaxamento nitrérgico também foi significativamente maior ($p < 0,05$) nos corpos cavernosos do grupo anemia falciforme em comparação com o grupo controle (8 Hz: $90 \pm 6\%$ e $65 \pm 4\%$, respectivamente). **Conclusão:** O modelo Townes de anemia falciforme apresenta disfunção erétil, que está associada ao aumento da contração do músculo liso do corpo cavernoso. A disfunção erétil não associada ao priapismo pode ocorrer em pacientes com anemia falciforme. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

78. QUALIDADE DO SONO EM PACIENTES ADULTOS COM ANEMIA FALCIFORME

Cabanas-Pedro AC^a, Matsuda S^a, Roizenblatt S^b, Biassi TP^a, Kimura MT^a, Reinfelder JR^c, Silva FC^c, Bittencourt LRA^c, Tufik S^c, Figueiredo MS^a

^a Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Escola Paulista de Medicina (EPM), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Departamento de Medicina, Escola Paulista de Medicina (EPM), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

^c Departamento de Psicobiologia, Escola Paulista de Medicina (EPM), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Uma das mais importantes e graves complicações da anemia falciforme (AF) é a lesão neurológica, incluindo o acidente vascular cerebral (AVC) em 11% das crianças e infartos silenciosos em 11-35% desses pacientes. Essa complicação geralmente se acompanha de déficit neurológico, seja ele motor ou cognitivo. Testes neurocognitivos em crianças detectaram déficit de atenção e de função executiva, diminuição da qualidade de vida e pobre rendimento escolar, mesmo em indivíduos sem lesão neurológica detectada. Por outro lado, distúrbios do sono têm sido relacionados a diversas doenças metabólicas e inflamatórias. Sabe-se, por exemplo, que a diminuição do tempo de sono REM é causa de quadro depressivo, déficit de atenção e de consolidação da memória. **Objetivo:** Avaliar a qualidade do sono em pacientes com AF levando-se em conta que as manifestações neurocognitivas ainda são pouco entendidas na AF e dada a importância do sono nelas. **Material e métodos:** Avaliados 75 indivíduos adultos, 71 (95%) com AF e quatro (5%) com S-beta-talassemia, acompanhados no Ambulatório de Anemias Hereditárias da EPM/UNIFESP. Feita polissonografia (PSG), pelo sistema Embla S7000, no Laboratório do Sono, Departamento de Psicobiologia da EPM/UNIFESP. Os resultados foram comparados a dados de normalidade da American Academy of Sleep Medicine (AASM). Excluídos pacientes que apresentaram quadro vaso-oclusivo, infeccioso, gestação ou transfusão nos três meses anteriores aos exames de PSG. **Resultados:** A idade média dos pacientes foi de $29,4 \pm 9,3$ anos, com 42 (56%) do gênero feminino. Os resultados da PSG, seguidos dos dados de normalidade da AASM entre parênteses, foram: tempo de latência = $23,2 \pm 23,9$ ($15,7 \pm 14,3$); tempo de latência do REM = $124,1 \pm 54,5$ ($88,4 \pm 40,9$); tempo total de sono = $350,4 \pm 68,5$ ($394,5 \pm 56,6$); eficiência do sono = $81 \pm 11,4$ ($82,2 \pm 10,5$); %S1 = $7,6 \pm 5,1$ ($15,3 \pm 7,7$); %S2 = $57,1 \pm 9,0$ ($49,2 \pm 9,3$); %S3 = $18,6 \pm 7,6$ ($16,1 \pm 10,8$); %REM = $16,4 \pm 6,4$ ($19,4 \pm 5,1$), e waso = $48,4 \pm 45,8$ ($69,9 \pm 45,8$). **Discussão:** As alterações neurocognitivas em crianças também foram observadas em adultos com AF: menor desempenho em testes de QI, menor velocidade de processamento e dificuldade de memória. Entretanto, a fisiopatologia desses déficits ainda não é claramente entendida, já que mesmo indivíduos sem sinais ou exames sugestivos de lesão neurológica podem apresentar esses déficits. Nossos pacientes apresentaram aumento do estágio S2 do sono e diminuição do sono REM, o que

sugere alteração da arquitetura do sono. Essa alteração é referida como associada a graves disfunções da função executiva e do desempenho cognitivo. Dado semelhante foi observado em crianças com AF (Hollocks et al., J Int Neuropsychol Soc, 2012). **Conclusão:** Nosso trabalho ressalta a necessidade do melhor entendimento da fisiologia do sono e de seu papel como fator contribuinte na disfunção neurocognitiva da AF.

79. ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DO DOPPLER TRANSCRANIANO NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO EM PACIENTES COM DOENÇAS FALCIFORMES REGISTRADOS NO NÚCLEO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE SANTOS

Junior LCGP^a, Santos NGL^a, Giuliani RRS^a, Rodrigues DLG^b, Ferreira ECPM^a

^a Centro Universitário Lusíada (UNILUS), Santos, SP, Brasil

^b Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Santos, SP, Brasil

Introdução: As doenças falciformes são patologias hematológicas que apresentam uma desordem genética. Essas patologias são muito comuns no Brasil e no mundo e sua origem provém dos escravos africanos. A sua ocorrência é mais frequente em indivíduos da etnia negroide, porém, por causa da miscigenação, nos dias de hoje a sua incidência tem sido presenciada em outras etnias. Essas doenças falciformes têm como principal evento, fisiopatológico e clínico, a crise vaso-oclusiva. Tal evento é favorecido quando os eritrócitos falcizados junto a outros elementos do sangue, como leucócitos, plaquetas e proteínas, se aderem ao endotélio vascular. Por causa desse processo, esses indivíduos falcêmicos tendem a apresentar, principalmente as crianças, uma pré-disposição a sofrer acidente vascular encefálico. Entretanto, ao usar a técnica denominada doppler transcraniano, a qual tem a capacidade de diagnosticar precocemente o risco, as chances desses pacientes de não desenvolverem acidentes vasculares aumentam consideravelmente. **Objetivo:** Demonstrar, por meio de dados coletados de 59 pacientes registrados no Núcleo de Hematologia e Hemoterapia de Santos, os resultados obtidos por meio do doppler transcraniano feito em 2010, 2011 e 2012. **Resultados:** Com base nos critérios do Estudo Stop (Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia), pôde-se observar que, em 2010, 71,43% ($n = 25$) dos pacientes apresentaram resultados normais, 17,14% ($n = 6$) obtiveram resultados condicionais e 11,43% ($n = 4$) apresentaram valores inadequados. Em 2011, 54,76% ($n = 23$) apresentaram resultados normais, 23,81% ($n = 10$) mostraram resultados condicionais, 19,05% ($n = 8$) obtiveram valores inadequados e 2,38% ($n = 1$) apresentaram resultado anormal. Em 2012, 65,38% ($n = 17$) apresentaram resultados normais, 11,54% ($n = 3$) obtiveram valores condicionais para o exame, 11,54% ($n = 3$) mostraram resultados inadequados e 11,54% ($n = 3$) apresentaram resultados anormais. No exame em questão, foi possível observar também que todos os indivíduos do presente estudo apresentavam velocidade de fluxo sanguíneo cerebral aumentada nas artérias M1, A1, P1, P2, basilar e vertebrais. Os índices de pulsabilidade das artérias cerebrais se encontravam simétricos e normais e a resistência vascular era normal. **Conclusão:** Dos 59 pacientes acompanhados com o doppler transcraniano, apenas quatro apresentaram risco de desenvolver acidente vascular encefálico.

80. ANÁLISE DOS POLIMORFISMOS CD39, IVSI-1, IVSI-6 E IVSI-110 EM PACIENTES COM BETA-TALASSEMIA ACOMPANHADOS NO AMBULATÓRIO DO HEMOCENTRO DE RIBEIRÃO PRETO

Rodrigues ES^{a,b}, Silva-Pinto AC^a, Cuter TB^a, Romagnoli AC^a, Catelli LF^a, Costa PNM^a, Santis GC^a, Ubiali EMA^a, Kashima S^{a,b}, Covas DT^{a,c}

^a Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, Brasil

^b Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, Brasil

^c Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, Brasil

Introdução: A beta-talassemia é uma desordem recessiva autossomal relacionada com a diminuição ou ausência na síntese da cadeia beta da hemoglobina. A caracterização molecular dos pacientes portadores de beta-talassemia auxilia na predição da severidade da doença ou contribui para traçar o perfil das mutações dessa hemoglobinopatia nas diferentes regiões do Brasil. **Objetivo:** Avaliar os polimorfismos CD39 C > T, IVSI-1 G > A, IVSI-6 T > C e IVSI-110 G > A em pacientes com beta-talassemia acompa-

nhados no ambulatório do Hemocentro de Ribeirão Preto. **Material e métodos:** Foram diagnosticados 38 pacientes beta-talassêmicos por avaliação hematológica das células sanguíneas e análise por eletroforese em pH alcalino. Para análise dos polimorfismos, foram extraídas amostras de DNA a partir de sangue total. As amostras de DNA foram amplificadas por PCR alelo-específico para os polimorfismos CD39 C > T, IVSI-1 G > A, IVSI-6 T > C e IVSI-110 G > A. **Resultados:** A maioria dos pacientes (73,7%) é portadora de beta-talassemia grave e 26,3% têm beta-talassemia intermediária. A frequência alélica de CD39 T nos pacientes beta-talassêmicos foi de 51,3%. O alelo IVSI-110 A foi observado em 27,6% dos indivíduos, e o alelo IVSI-6 C, em 17,1%. Os demais indivíduos talassêmicos (4%) não apresentaram as mutações estudadas. Não foram encontrados indivíduos com o polimorfismo IVSI-1 G > A. A presença do polimorfismo CD39 C > T em homocigose ou em heterocigose associado ao IVSI-110 G > A foi relacionada com a severidade da beta-talassemia, pois a maioria dos pacientes (90%) homocigotos CD39 T/T ou heterocigotos CD39 T/IVSI-110 A apresentou beta-talassemia grave. No entanto, a alteração IVSI-6/IVSI-110 foi mais comum em pacientes com beta-talassemia intermediária (80%). **Conclusão:** Este trabalho mostra a frequência dos principais polimorfismos relacionados com a beta-talassemia em pacientes do ambulatório do Hemocentro de Ribeirão Preto e demonstra o impacto das alterações genéticas na severidade clínica da doença. Além disso, o diagnóstico molecular contribuiu para o aconselhamento genético e as decisões clínicas sobre a terapia com hemoderivados em pacientes com beta-talassemia. **Financiamento:** Centro de Terapia Computarizada Gênese Medicina Diagnóstica, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Terapia Celular (INCTC), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (Fundherp) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

81. ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS À INFLAMAÇÃO NA PLACENTA DE PACIENTE COM ANEMIA FALCIFORME

Baptista LC^a, Ferreira R^b, Surita F^c, Parpinelli MA^c, Fertrin KY^b, Lanaro C^b, Albuquerque DM^b, Saad STO^b, Costa FF^b, Costa ML^c, Melo MB^a

- ^a Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil
^b Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil
^c Departamento de Obstetrícia e Ginecologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A gravidez na anemia falciforme (AF) é caracterizada por episódios de dor, infecções, pielonefrite, complicações pulmonares, eventos tromboembólicos e, em muitos casos, pré-eclâmpsia. A circulação placentária é suscetível à vaso-oclusão, o que pode contribuir para a fibrose, a necrose e o infarto das vilosidades da placenta. Além disso, a circulação útero-placentária restrita, que ocorre na AF, está associada à restrição do crescimento fetal e ao baixo peso ao nascer. Os mecanismos pelos quais a AF afeta a fisiologia da placenta são pouco conhecidos. O estado inflamatório crônico da AF pode estar envolvido nesse processo, uma vez que os leucócitos aderentes à parede do vaso estão diretamente envolvidos na vaso-oclusão. **Objetivo:** Avaliar a expressão de mediadores da resposta inflamatória na placenta de uma gestante portadora de AF. **Material e métodos:** Foi recrutada uma paciente grávida com AF em acompanhamento de pré-natal de alto risco para analisar o perfil de expressão dos genes envolvidos em vias da resposta inflamatória e autoimunidade. Uma gestante sem qualquer complicação clínica ou obstétrica foi selecionada como controle e pareada por idade gestacional e via de parto. As gestantes foram submetidas à cesárea após 37 semanas e o tecido placentário foi obtido por meio de seleção ao acaso de amostras, equidistantes da inserção do cordão umbilical, para evitar áreas visivelmente comprometidas. A extração do RNA da placenta foi feita por meio de kit comercial e a verificação da integridade da amostra foi confirmada em bioanalisador. Para avaliação dos genes envolvidos no processo inflamatório foi usado o sistema de qPCR-array (Qiagen), que contém 84 genes. Para normalização dos dados foram usados os controles endógenos BAC, B2M e RPLP60, e a validação foi feita por qPCR. **Resultados:** Diferença na expressão de 52 genes envolvidos na resposta inflamatória da amostra placentária de AF em comparação com a amostra controle. Entre eles, 37 genes mostraram-se superexpressos e 15 subexpressos. Os genes com maiores níveis de expressão foram: NOS2, CCL22, INFNG, CD40LG e IL23R (Fold change: 26,38; 15,49; 13,59; 8,42 e 7,80, respectivamente). Em contrapartida, os genes TLR9, CXCL3, KNG1, CRP e IL1B (Fold change: -12,55; -11,64; -9,59; -9,01 e -8,20, respectivamente) exibiram os menores valores de expressão. **Conclusão:** Este é o primeiro estu-

do que avalia a expressão gênica diferencial em amostra de placenta de paciente com AF. Os dados obtidos sugerem que um número significativo de genes são superexpressos na placenta de pacientes com AF e podem ter participação fundamental nas complicações observadas durante a gravidez nessas pacientes. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

82. IDENTIFICAÇÃO DOS HAPLÓTIPOS ASSOCIADOS AO GENE DA GLOBINA-BETA EM PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME NA REGIÃO DE LONDRINA-PARANÁ

Castilho BP^a, Santos AF^b, Albuquerque DM^b, Conran N^b, Costa FF^b, Favero ME^a

- ^a Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil
^b Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma doença genética causada por uma mutação no gene da cadeia globínica beta (HBB), cuja consequência é a substituição de um ácido glutâmico por uma valina na sexta posição da cadeia beta, que origina a hemoglobina S (HbS). Embora a mutação primária seja idêntica em todos os portadores de AF, existe uma grande heterogeneidade no fenótipo dessa doença, que pode ser parcialmente explicada pela existência de cinco haplótipos diferentes associados ao *cluster* do gene HBB, os quais estão correlacionados com níveis diferenciados de hemoglobina fetal (HbF). O haplótipo Bantu (CAR) está associado a baixos níveis de HbF (inferior a 5%) e maior gravidade clínica, o Benin apresenta níveis de HbF entre 5% e 15%, enquanto o haplótipo Senegal (SEN) está associado a elevados níveis de HbF (superior a 15%) e menor gravidade clínica. Por causa da heterogeneidade na composição étnica da população brasileira, a AF apresenta distribuição geográfica heterogênea e sua frequência pode variar significativamente de região para região. **Objetivo:** Identificar os haplótipos do gene HBB em pacientes com AF atendidos no Hospital Universitário de Londrina e avaliar sua correlação com os níveis de HbF. **Material e métodos:** Foram incluídos no estudo 27 pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de AF. A HbF foi quantificada por HPLC e os haplótipos foram identificados por reação em cadeia da polimerase (PCR) e análise do comprimento dos fragmentos de restrição (RFLP) de seis sítios polimórficos de acordo com Sutton et al. (1989) e Orkin et al. (1982). A idade dos pacientes variou entre um e 53 anos (22,2 ± 13,5). Eram 14 (51,8%) do gênero masculino e 13 (48,1%) do feminino. **Resultados:** Entre os 54 alelos analisados, foram identificados os haplótipos CAR (63%), Benin (31,5%), SEN (1,8%) e atípico (3,7%). Nove pacientes com AF eram homocigotos para o haplótipo CAR (33,3%), dois homocigotos para o haplótipo BEN (7,4%) e 16 haplótipos heterocigotos (59,3%) com os genótipos CAR/BEN (48,2%), CAR/atípico (7,4%) e CAR/SEN (3,7%). O haplótipo encontrado com maior frequência foi o CAR, seguido pelo BEN. Resultado semelhante foi obtido em estudos feitos no Rio Grande do Sul, em São Paulo, no Pará e em Pernambuco. Os valores de HbF variaram entre 0,6 e 21,1% (7,4 ± 5,9). O grupo homocigoto para o haplótipo BEN apresentou os resultados mais elevados de HbF (13,8 ± 1,8). Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos CAR/CAR (7,3 ± 5,8) e CAR/BEN (5,8 ± 6,1). **Conclusão:** A média de HbF maior no grupo CAR/CAR em relação ao CAR/BEN não está de acordo com o esperado, porém, resultado semelhante foi obtido em uma população do Rio Grande do Sul e sugere que outros fatores além do tipo de haplótipos podem ter influência na produção de HbF.

83. GINCANAS DA SOBRECARGA DE FERRO: ESTRATÉGIAS DE ADERÊNCIA PARA PESSOA COM DOENÇA FALCIFORME AO USO DE QUELANTE DE FERRO ORAL

Queiroz AMM, Carvalho EM

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: O ferro é uma substância fundamental para o organismo, pois é responsável por processos do metabolismo celular, tais como o transporte de oxigênio, a síntese de DNA e o transporte de elétrons. Entre as situações clínicas decorrentes da sobrecarga de ferro, a hemossiderose secundária se destaca pelo fato de estar diretamente ligada às transfusões de sangue necessárias aos pacientes com doença falciforme. No entanto, para os pacientes com doença falciforme, em cada sessão de transfusão uma parte do ferro é incorporada e não pode ser eliminada pelo organismo, considerando que, quanto maior o acúmulo de ferro, maiores

os riscos de morbidade e mortalidade. O tratamento com quelante de ferro se torna essencial para o controle da hemossiderose, pois ele é um medicamento composto por substâncias que têm a capacidade de se ligar ao ferro e permitir a liberação do excesso dessa substância, com o objetivo de prevenir e proteger o paciente de complicações decorrentes da doença. Observa-se nítida correlação favorável entre queilação adequada de ferro, qualidade de vida e sobrevida, porém, não são raros os casos de pacientes que não aderem adequadamente ao tratamento e geram, conseqüentemente, complicações secundárias. **Objetivo:** Incentivar as pessoas com doença falciforme com sobrecarga de ferro a aderirem ao uso do quelante de ferro oral por meio de uma gincana como estratégia. **Material e métodos:** Estudo qualitativo, descritivo, feito em um hospital público estadual, de alta complexidade, localizado no Rio de Janeiro, especializado em Hematologia e Hemoterapia, cujo objetivo é referência em atendimentos a pacientes com doença hematológica. As gincanas do inverno e da primavera foram feitas em junho e outubro de 2013. Os participantes foram todos pacientes portadores de doença falciforme matriculados na referida instituição, maiores de 15 anos, que tinham sobrecarga de ferro. No convite para a gincana, o participante recebia um envelope do seu médico assistente com três tíquetes referentes às estações (consulta médica, consulta da farmácia e consulta de enfermagem). Para concorrer aos prêmios, os participantes deveriam comprovar que passaram pelas estações. O sorteio foi feito no auditório da instituição, após uma palestra sobre sobrecarga de ferro, feita por componentes do grupo multidisciplinar. **Resultados:** Por meio de uma planilha de consumo de quelante de ferro mensal, fornecida pelo setor de faturamento da referida instituição de junho a outubro de 2013, observou-se um aumento de consumo de 30% do uso de quelante de ferro oral em relação aos meses anteriores. **Conclusão:** A gincana como estratégia demonstrou uma efetividade de aderência ao uso de quelante de ferro oral.

84. INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES TGF-BETA E BMP6 QUE PODEM ESTAR RELACIONADOS AO DESENVOLVIMENTO DE ÚLCERAS DE MEMBROS INFERIORES EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME NO ESTADO DE PERNAMBUCO

Prado LL^a, Falcão DA^a, Laranjeira RSM^a, Domingos IF^a, Medeiros RLB^a, Martins D^a, Belmont TFM^b, Araújo A^c, Lucena-Araujo AR^a, Bezerra MAC^a

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

^b Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: A úlcera de membros inferiores é a complicação cutânea mais frequente na doença falciforme. Atinge principalmente a região dos maléolos medial e lateral e a região frontal da perna e dos calcanhares e apresenta cicatrização lenta e alta taxa de recorrência. De acordo com sua duração, pode ser classificadas em aguda ou crônica. Ocorre entre 8% a 10% dos pacientes falciformes e atinge percentual maior do que 50% em pacientes que residem em áreas tropicais. Seu surgimento envolve quadros graves por causa da vaso-oclusão recorrente, da hipóxia tecidual, da hemólise e de fatores genéticos. Moduladores genéticos têm grande importância na caracterização do quadro clínico na doença falciforme. Entre os mais conhecidos estão as variações nos níveis da Hb Fetal, que são inversamente proporcionais à gravidade da doença, o tipo de haplótipo ligado ao cluster da globina beta e a presença de alfa-talassemia. Polimorfismos em genes envolvidos na homeostase da epiderme, nos processos de angiogênese e na proliferação celular são os novos alvos para a elucidação do quadro de formação e agravamento das úlceras. **Objetivo:** Investigar uma possível associação de polimorfismos nos genes BMP6 (rs270393) e dos genes codificantes para os receptores do TGFβ (rs1019856; rs2038931) com o desenvolvimento das úlceras de membros inferiores em pacientes com anemia falciforme acompanhados na Fundação HEMOPE. **Material e métodos:** A amostra foi constituída de 100 pacientes casos e 175 pacientes controles. Usamos como critérios de inclusão para os casos: pacientes portadores de anemia falciforme (HbSS) com histórico atual ou prévio de úlcera de membros inferiores. O grupo de controles foi constituído de portadores de anemia falciforme acima de 18 anos que nunca apresentaram úlceras. Análise molecular foi feita por PCR em tempo real. A análise estatística foi feita com o auxílio do *software* SPSS Statistics 19.0 com o teste exato de Fisher e o teste de Mann-Whitney.

Resultados: Ao analisar a distribuição genotípica do polimorfismo no gene TGFβRIII rs2038931 para os três genótipos isoladamente, foi observada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,027$). Para as frequências alélicas do mesmo polimorfismo (A e G), também foi encontrado resultado estatisticamente significativo ($p = 0,039$). Não houve diferença estatística nos outros marcadores moleculares investigados. **Conclusão:** Sugerimos que o polimorfismo no gene TGFβRIII apresenta uma possível influência como modulador genético para a prevalência de úlceras de membros inferiores em nossa população de pacientes com anemia falciforme.

85. PREVALÊNCIA DE TVP/TEP ENTRE PACIENTES ADULTOS COM DOENÇA FALCIFORME AVALIADOS COM ANGIOTOMOGRAFIA DE TÓRAX DURANTE EPISÓDIOS DE SÍNDROME TORÁCICA AGUDA

Cordeiro AC^a, Fonseca GHH^a, Sukanuma LM^a, Gualandro SFM^b

^a Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A síndrome torácica aguda (STA) é uma complicação grave e frequente da doença falciforme (DF), associada a várias causas. Por ser caracterizada por dor torácica, o diagnóstico diferencial inclui TVP e TEP. Os algoritmos diagnósticos tradicionais, como os critérios de Wells, são de pouco valor na DF, particularmente pela baixa especificidade do D-dímero, frequentemente elevado em *steady state*. Com a maior disponibilidade da angiotomografia de tórax (Angio-TC), está se tornando mais comum o uso desse exame no diagnóstico. Há questionamentos quanto à sensibilidade excessiva da Angio-TC, à especificidade dos seus achados na DF, ao impacto na mudança de condutas, ao custo e à segurança do procedimento (pela potencial nefrotoxicidade e exposição à radiação). Há poucos trabalhos que estudaram essas questões na DF. **Material e métodos:** Avaliamos retrospectivamente 39 angio-TCs de tórax com extensão de imagens para membros inferiores, solicitados para 31 pacientes com DF acompanhados no HC-FM-USP. Foram coletados as histórias clínicas dos pacientes e dados para avaliar a função renal antes e após o procedimento e para cálculo do escore de Wells. **Resultados:** As mulheres representaram 48,72% dos casos. A mediana de idade foi de 31 anos. Foram solicitados 22 exames para pacientes com anemia falciforme, nove para Sβ talassemia e oito para hemoglobinopatia SC. Em cinco exames (12,8%) foi vista falha de enchimento sugestiva de obstrução vascular, todas com múltiplos ramos arteriais envolvidos, em dois pacientes SC e três SS. Em nenhum paciente foi demonstrado TVP. Outros achados: perfusão em mosaico em cinco (12,8%), que poderia corresponder à oclusão da microvasculatura; atelectasia em 23 (58,9%); aumento do calibre das artérias pulmonares em 18 (46,1%); cardiomegalia em 16 (41%); e consolidações em 33%. Não foi possível determinar características clínicas ou laboratoriais associadas às alterações tomográficas. Ocorreu disfunção renal em cinco pacientes, caracterizada por elevação transitória e leve da creatinina. **Discussão:** Os achados tomográficos ilustram a grande complexidade da STA, com múltiplos achados que remetem a várias causas. Tais resultados confirmam a necessidade de abordagem terapêutica ampla que combata as infecções, o quadro doloroso e a predisposição trombótica e evite simultaneamente a congestão e a sedação excessivas. No presente estudo, a frequência de imagens que poderiam ser sugestivas de TEP é de 12,8%. O fato de não ter sido observada TVP associada e a distribuição em múltiplos vasos sugerem que o quadro é provavelmente decorrente de vaso-oclusão e ativação da coagulação *in situ*. Esses achados são semelhantes à casuística do grupo francês (Metkonso et al., 2011), que encontrou 17% de trombose pulmonar sem TVP associada. A toxicidade renal do exame foi pequena, mas a ausência sistemática de TVP sugere pouca utilidade em estender o exame para avaliação vascular de MMII e minimizar, assim, a exposição radiológica. **Conclusão:** A decisão de solicitar angio-TC de tórax na avaliação de STA ainda recai na cuidadosa avaliação individual de risco/benefício. Não é possível preconizar seu uso sistemático na avaliação desses pacientes. É necessária interpretação cuidadosa das imagens sugestivas de TEP, pois podem representar áreas de trombose *in situ*, nas quais o papel da anticoagulação não é bem estabelecido.

86. AVALIAÇÃO PELAS AGENTES COMUNITÁRIAS DE SAÚDE PARTICIPANTES DO PROJETO “TRAÇO FALCIFORME: O RISCO É IGNORAR”, SOBRE O PROJETO DE DIVULGAÇÃO SOBRE O TRAÇO FALCIFORME FEITO EM UNIDADE DE SAÚDE DA FAMÍLIA NA CIDADE DE BOTUCATU

Bueno CG, Gondo F, Oliveira AE, Giansante T, Rosa JR, Hokama POM, Hokama NK

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Introdução: O traço falciforme é condição genética não patológica altamente prevalente em nosso País. Os portadores podem ter filhos com doença falciforme em situação homocigota (anemia falciforme) ou duplamente heterocigotas (hemoglobinopatia SC e anemia falciforme-beta-talassemia) caso os cônjuges sejam portadores do traço ou outras alterações genéticas das hemoglobinas citadas. A anemia falciforme é a condição genética monossômica mais prevalente em nosso País. Apesar da inclusão da triagem de hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal (Teste do Pezinho) desde 2001, a divulgação da doença falciforme parece ser insuficiente para que a população tenha conhecimento ou consciência sobre a necessidade da triagem e o significado dos testes positivos para anemia ou traço falciforme. **Objetivo:** Discutir e implantar, por meio da Secretaria Municipal de Saúde de Botucatu, durante dois anos, um projeto-piloto com os profissionais da Unidade de Saúde da Família do Jardim Iolanda para divulgarmos o traço falciforme na população atendida por aquela unidade. Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu, capacitamos as seis agentes comunitárias de saúde daquele posto a divulgarem o traço falciforme, com o uso de material especialmente confeccionado, como folders e cartazes. **Resultados:** Seis meses após o término do projeto, aplicamos questionário para avaliar o conhecimento retido e solicitar a opinião das agentes sobre o trabalho feito. As seis agentes demonstraram conhecimento a respeito das três questões que trataram do conhecimento retido do traço falciforme e dos esclarecimentos necessários sobre o traço falciforme, a saber: 1) “O que você considera mais importante sobre o traço falciforme?” 2) “Uma família teve um bebê que no teste do pezinho acusou o traço falciforme. O que você diria, caso eles te solicitassem uma orientação?” 3) “Uma moça doou sangue e os testes deram positivo para o traço falciforme. O que você diria, caso ela quisesse uma orientação sua?” Todas as seis agentes comunitárias relataram não ter dificuldades para divulgar o traço falciforme, mas ressaltaram o fato de a população desconhecer o traço e a anemia falciforme. Uma das agentes relatou o fato de algumas pessoas confundirem o traço com a anemia por falta de ferro. Ressaltaram que o uso dos folders facilitou muito a divulgação e que acreditam que a mídia deveria divulgar o traço e a anemia falciforme. Todas as agentes participantes julgaram importante ampliar o trabalho para outras unidades de saúde pública. **Conclusão:** Nosso projeto deve ser continuado. A capacitação feita promoveu a fixação dos principais conceitos sobre o traço falciforme e possibilitou que as agentes treinadas divulguem e esclareçam o traço falciforme para a população atendida.

87. ABORTAMENTO COMO PRINCIPAL COMPLICAÇÃO EM GESTANTES COM ANEMIA FALCIFORME

Morais DS, Gama HLJ, Vilanova RO, Júnior MAD, Almeida DA, Barbosa LF, Moura MEP, Ferraz LRS

Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), São Luís, MA, Brasil

Introdução: A anemia falciforme é uma doença hereditária, cuja causa é uma mutação no ponto da globina beta da hemoglobina A (HbAA), normal, com a formação da hemoglobina S (HbSS), mutante. Sob baixas tensões de oxigênio, essa molécula alterada sofre polimerização, com consequente distorção dos eritrócitos, e promove a sua falcização, em forma de “foice”, daí falciforme. A gestação na doença falciforme conduz de modo significativo à morbidade materno-fetal por meio de várias comorbidades, principalmente o abortamento fetal. **Objetivo:** Determinar as maiores complicações decorrentes da anemia falciforme na gestação para a mãe e, principalmente, seus efeitos para o feto. **Material e métodos:** Foi feita uma revisão sistemática de literatura. Na busca, usaram-se as seguintes frases-chaves contempladas nos descritores em ciências da saúde (DeCS): “abortamento em gestantes com fenótipo HbS”, “complicações na gravidez” e “crise falciforme” nos indexadores LILACS, SciELO, Bireme, BVS e PubMed. Foram incluídos estudos publicados entre 2000 e 2013. **Resultados:** Observou-se que as grávidas

com anemia falciforme apresentam uma elevada predominância de principalmente abortamentos, mas também maior frequência de natimortos e partos prematuros em relação às gestantes sem o fenótipo falcêmico. **Discussão:** Vários estudos corroboraram esses achados, em que nas gestações de mulheres heterocigóticas HbAS cujos parceiros eram HbAA existiu maior número de gestações a termo de fetos HbAS do que de fetos HbAA. Isso ocorre por meio de um efeito materno que dá preferência por abortamentos de embriões HbAA cuja causa ainda não foi definida. Assim, a ocorrência de fetos natimortos e partos prematuros deriva do comprometimento do fluxo sanguíneo placentário, o que ocasiona atraso do crescimento uterino e baixo peso ao nascimento, quando para a mãe não há desenvolvimento de doenças hipertensivas e eclâmpsia. **Conclusão:** Estudos como este são importantes para que ocorra uma identificação precisa e precoce das manifestações clínicas decorrentes da anemia falciforme durante a gestação. Dessa forma, contribuirão para que haja uma maior eficácia na assistência pré-natal prestada à gestante portadora de anemia falciforme, assim como uma melhor qualidade de vida para a mãe e o feto.

88. INVESTIGAÇÃO DO POLIMORFISMO ANXA2 (RS7170178) NA SUSCEPTIBILIDADE À OCORRÊNCIA DE OSTEONECROSE EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Martins DAP^a, Souza MBS^a, Domingos IF^a, Silva JLC^a, Costa MA^a, Neto PLF^a, Guedes GMR^a, Araujo AS^b, Araujo ARL^a, Bezerra MAC^a

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

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

Introdução: A osteonecrose é uma importante causa de morbidade na doença falciforme. A osteonecrose ocorre por causa da vaso-oclusão na microcirculação dos ossos, com infarto das superfícies articulares, especialmente nas epífises dos ossos longos (fêmur e úmero), e afeta consideravelmente a qualidade de vida dos pacientes, que apresentam dores intensas na região do quadril, com consequente limitação na locomoção. A única opção de tratamento é a intervenção cirúrgica, que na maior parte dos casos tem resultados insatisfatórios. Em pacientes com doença falciforme, a osteonecrose pode variar em frequência e gravidade, por causa dos efeitos dos genes que modificam a fisiopatologia da doença iniciada pela mutação falciforme. O gene ANXA2 codifica a proteína anexina A2 (ANX2), torna-se promissor na compreensão dos fenômenos vasocclusivos, por causa do seu papel no endotélio vascular, envolvido em vias de regulação do crescimento celular e transdução de sinal, além de atuar no metabolismo ósseo, ao regular o balanço entre a osteogênese e a reabsorção óssea. Além disso, a ANX2 constitui a chave da regulação dos processos hemostáticos na superfície das células endoteliais, ao controlar o balanço de fibrina e a angiogênese. Desse modo, polimorfismos nesse gene modulam a produção da ANX2 e, assim, os indivíduos afetados podem apresentar complicações vasculares mais graves, predisponentes aos eventos clínicos da AF, como a osteonecrose. **Objetivo:** Avaliar a associação do polimorfismo no gene ANXA2 (rs7170178) com a susceptibilidade à ocorrência da osteonecrose em pacientes com anemia falciforme acompanhados no HEMOPE. **Material e métodos:** Foram analisados 148 pacientes com AF cadastrados na Fundação HEMOPE. Desses, 52 desenvolveram osteonecrose entre seis e 54 anos. O grupo caso e o grupo controle consistiram de 96 pacientes, de 22 a 72 anos, sem história atual e prévia de osteonecrose ou dores ósseas. A pesquisa do polimorfismo ANXA2G/A (rs7170178) foi feita por reação em cadeia da polimerase (qPCR), com sondas TaqMan[®]. As análises estatísticas foram feitas pelo teste exato de Fisher, e o teste de qui-quadrado, com o software SPSS 19.0. **Resultados:** O polimorfismo no gene da ANXA2 G/A (rs7170178) não apresentou resultado estatisticamente significativo ($p = 0,092$) entre os grupos caso e controle (OR: 0,36, IC95%: 0,11 a 1,13). **Conclusão:** Polimorfismos no ANXA2 levam a uma predisposição a complicações vasculares decorrentes de eventos trombóticos, sobretudo na microcirculação, e favorecem o desenvolvimento de manifestações clínicas da AF, como a osteonecrose. Embora nossos resultados não tenham sido estatisticamente significativos, isso pode ser explicado pelo baixo número de pacientes. Uma amostragem mais significativa está sendo coletada, para verificar a real influência da ANX2 como fator modulador das manifestações ósseas da AF, tais como a osteonecrose. A heterogeneidade genética da nossa população indica a necessidade de novos estudos em colaboração mundial para determinar a relevância real dos resultados que envolvam poli-

morsmos genéticos e sua inuência na prevalência e previsibilidade de complicações clínicas na AF.

89. “TRAÇO FALCIFORME: O RISCO É IGNORAR”: PROJETO DE COMUNICAÇÃO EM SAÚDE DESTINADO A DIVULGAR O TRAÇO FALCIFORME PARA A POPULAÇÃO EM GERAL ATRAVÉS DE INTERVENÇÃO NAS RUAS

Santos AG, Lisboa MS, Almeida MO, Hokama POM, Hokama NK

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Introdução: O traço falciforme é a forma assintomática e heterozigótica para a hemoglobina S. Cerca de 2% da população brasileira têm o traço falciforme (TF), mas a maioria desconhece ser portador. Os exames laboratoriais para o diagnóstico do TF são disponíveis na rede pública, incluídos na doação de sangue, no teste do pezinho ou a critério médico. A detecção do TF permite a orientação e o aconselhamento genético para o risco de um casal ter um filho com anemia falciforme (AF), a forma homozigótica e sintomática dessa alteração genética. Embora o TF tenha alta frequência e a anemia falciforme seja a doença monogenética mais prevalente no Brasil, a maioria da população desconhece tanto o traço como a anemia falciforme. **Objetivo:** Divulgar para a comunidade os principais aspectos do TF, para informar e orientar sobre as questões genéticas. **Material e métodos:** Após treinamento e capacitação de três acadêmicas do curso de enfermagem da Faculdade de Medicina de Botucatu, elaboramos a estratégia de trabalho e o material didático, cartazes e folders. Submetemos o projeto à Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu e recebemos a aprovação. Escolhemos a rua Amando de Barros, em Botucatu, como ponto de divulgação, pelo fato de ser a mais movimentada da cidade. Posicionamo-nos na calçada em frente à praça principal, perto das agências bancárias, local com grande afluência de pedestres, onde colocamos os cartazes na parede, em seis ocasiões. Abordávamos os passantes ao acaso e solicitávamos a participação no trabalho, para que ouvissem as orientações sobre o TF e os principais aspectos, a saber: o TF é condição assintomática hereditária de pessoas portadoras da hemoglobina AS, diferente do padrão normal AA; pessoas com TF podem transmitir o gene para sua descendência; no caso de casais nos quais ambos são portadores do TF, há possibilidade de terem filhos com anemia falciforme, uma doença grave e cuja única possibilidade de cura é por meio do transplante de medula óssea; quantos exames laboratoriais são feitos para a detecção do TF. Algumas pessoas foram convidadas a responder questionário sobre os tópicos citados, a fim de avaliar a apreensão do conteúdo abordado. Para todas as pessoas abordadas oferecemos um anel de presente com o intuito de lembrá-los da possibilidade de fazer os exames para o TF quando tiverem a intenção de casar e/ou ter filhos. **Resultados:** Analisamos os resultados de 101 pessoas que concordaram em responder ao questionário pós-intervenção. A idade variou de 16 a 78 anos. Eram 31 homens e 70 mulheres. Perguntados se já tinham ouvido falar sobre o TF, 21 responderam que sim, cinco homens e 16 mulheres. Nessa população, 74 de 84 (88% de acertos) questões foram respondidas corretamente. Nos questionários das 80 pessoas entrevistadas que desconheciam o que era o TF, 289 das 320 questões foram respondidas corretamente, o que corresponde a 90% dos acertos. **Conclusão:** A análise dos questionários demonstrou que o trabalho de divulgação executado na rua mais movimentada de Botucatu, em ambiente bastante congestionado, pode ser usado para esclarecimento da população sobre os diversos aspectos de saúde e genéticos envolvidos no TF.

90. INVESTIGAÇÃO DOS POLIMORFISMOS TGF β 3 (RS2038931, RS7526590) NA SUSCEPTIBILIDADE À OCORRÊNCIA DO PRIAPISMO EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Costa MA^a, Silva JLC^a, Martins DAP^a, Falcão DA^a, Laranjeira LPM^a, Belmont TFM^b, Cavalcanti MDSM^b, Araújo AS^c, Lucena-Araujo AR^a, Bezerra MAC^a

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

^b Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: A anemia falciforme (AF) é a anemia hemolítica mais comum no Brasil. É uma doença que se origina de uma mutação circuns-

tancial no gene da globina β (HBB) e sua fisiopatologia é caracterizada pela polimerização da HbS, que leva à formação de eritrócitos em forma de foice. Essas hemácias falcizadas levam à vaso-oclusão e a eventos hemolíticos, responsáveis pelas principais manifestações clínicas da doença, como o priapismo. O priapismo, evento comum em crianças e adolescentes ou adultos jovens, consiste de uma ereção peniana prolongada e dolorosa, não acompanhada de desejo ou estímulo sexual, com duração mínima de quatro horas e que pode persistir durante dias. É considerada uma emergência urológica e pode causar sequelas, como a disfunção erétil e a impotência. Os eventos fisiopatológicos que conduzem ao desenvolvimento do priapismo podem ser influenciados pela heterogeneidade em genes que modulam a vasoregulação, como o TGF β 3, um gene que codifica o receptor do tipo III para a sinalização da via do TGF- β , que afeta a proliferação celular, inflamação, regulação imune e resposta à lesão tecidual, além da regulação das vias de apoptose e manutenção da homeostase em praticamente todos os tecidos do organismo. Polimorfismos no gene TGF β 3 (rs2038931 C/T, rs7526590 T/A) foram recentemente associados com a regulação do metabolismo vascular e podem, assim, influenciar na ocorrência das diversas manifestações clínicas da AF, como o priapismo. A identificação de variáveis genéticas que são associadas a essa manifestação pode, portanto, ajudar a definir mecanismos fisiopatológicos críticos não evidentes, assim como auxiliar na estratificação dos pacientes de acordo com risco aumentado de desenvolver essa manifestação. **Objetivo:** Avaliar a associação dos polimorfismos no gene TGF β 3 (rs2038931 C/T, rs7526590 T/A) com a susceptibilidade à ocorrência do priapismo em pacientes com anemia falciforme acompanhados no HEMOPE. **Material e métodos:** Foram analisados 202 pacientes com AF cadastrados na Fundação HEMOPE. Desses, 81 desenvolveram priapismo e definiram o grupo caso, e 121 pacientes, maiores de 18 anos, sem história atual e prévia de priapismo, constituíram o grupo controle. A pesquisa dos polimorfismos TGF β 3 (rs2038931 C/T, rs7526590 T/A) foi determinada por PCR em tempo real (qPCR), com o sistema TaqMan[®]. As análises estatísticas foram feitas pelo teste exato de Fisher e teste de qui-quadrado com o software SPSS 19.0. **Resultados:** O polimorfismo TGF β 3 C/T (rs2038931) não mostrou resultado estatisticamente significativo ($p = 0,749$) entre os grupos caso e controle (OR: 1.163, IC95%: 0,617 a 2.191), bem como o polimorfismo TGF β 3 T/A (rs7526590) não apresentou diferença em sua distribuição entre os grupos analisados ($p = 1,000$; OR: 1.308, IC95%: 0,081 a 21.236). **Conclusão:** Em nossa população, os polimorfismos do gene TGF β 3 (rs2038931 C/T, rs7526590 G/A) parecem não ter relação com a modulação do priapismo. A heterogeneidade genética da nossa população indica a necessidade de novos estudos em colaboração mundial para determinar a relevância real dos resultados que envolvam polimorfismos genéticos e sua inuência na prevalência e previsibilidade de complicações clínicas na AF, como o priapismo.

91. INVESTIGAÇÃO DO POLIMORFISMO KLOTHO (RS685417) NA SUSCEPTIBILIDADE À OCORRÊNCIA DO PRIAPISMO EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Costa MA^a, Silva JLC^a, Martins DAP^a, Falcão DA^a, Laranjeira LPM^a, Belmont TFM^b, Cavalcanti MDSM^b, Araújo AS^c, Lucena-Araujo AR^a, Bezerra MAC^a

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

^b Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: Doença autossômica recessiva de distribuição mundial, a anemia falciforme (AF) é uma das doenças hereditárias mais comuns no mundo, onde 300.000-400.000 crianças falciformes nascem a cada ano. A AF é uma hemoglobinopatia hereditária causada por uma mutação circunstancial no gene da globina β , que promove a substituição do ácido glutâmico pela valina e leva à formação de uma hemoglobina anormal, a HbS. Em condições como a hipóxia, a HbS polimeriza-se, altera a forma das hemácias, torna-as falcizadas e proporciona os eventos hemolíticos e vaso-oclusivos responsáveis pelas manifestações clínicas da doença, como o priapismo. O priapismo consiste de uma ereção peniana prolongada e dolorosa, não acompanhada de desejo ou estímulo sexual, com duração mínima de quatro horas e que pode persistir por dias. É um evento comum em crianças, adolescentes e adultos jovens, considerado uma emergência urológica, e pode causar sequelas, como a disfunção

eréttil e a impotência. O gene Klotho (KL) codifica a proteína Klotho (KL), uma proteína transmembrana, que pode ser clivada e dar origem a sua forma solúvel (sKL), envolvida na regulação de várias funções vasculares, como a produção de óxido nítrico (NO) pelas células endoteliais. Não está claro como o Klotho pode modular a ocorrência do priapismo. Entretanto, estudos recentes mostram que polimorfismos nesse gene podem levar a uma redução na síntese de NO e agravar, assim, a ocorrência de manifestações vaso-oclusivas presentes na anemia falciforme, como o priapismo. Considerando que pacientes com anemia falciforme apresentam muitas vezes quadros clínicos variados que dificultam a tomada de decisão terapêutica e de cuidados de saúde geral, a identificação de padrões biológicos que influenciem na modulação fenotípica é muito útil e de grande impacto na melhoria da sobrevida e da qualidade de vida e auxilia na estratificação dos pacientes que tenham risco aumentado de desenvolver essa manifestação. **Objetivo:** Avaliar a associação do polimorfismo no gene Klotho A/G (rs685417) com a susceptibilidade à ocorrência do priapismo em pacientes com anemia falciforme acompanhados no HEMOPE. **Material e métodos:** Foram analisados 106 pacientes com AF cadastrados na Fundação HEMOPE. Desses, 49 desenvolveram priapismo e definiram o grupo caso e 60 pacientes, maiores de 18 anos, sem história atual e prévia de priapismo, constituíram o grupo controle. A pesquisa do polimorfismo KL A/G (rs685417) foi determinada por PCR em tempo real (qPCR), com o sistema TaqMan®. As análises estatísticas foram feitas pelo teste exato de Fisher e teste de qui-quadrado com o *software* SPSS 19.0. **Resultados:** Entre os grupos caso e controle, respectivamente, 44 e 43 pacientes apresentaram os genótipos AA + AG e cinco e 17 pacientes apresentaram o genótipo homocigoto para a mutação (GG). A análise pelo teste exato de Fisher mostrou diferença quanto à presença do genótipo homocigoto mutante (GG) entre os grupos estudados ($p = 0,0295$; RR: 0,6396 (0,4688-0,8728)) e OR: 0,29 (IC95%: 0,0973-0,8484). **Conclusão:** O polimorfismo do gene KLA/G (rs685417) mostrou-se estar relacionado com a modulação do desenvolvimento de priapismo, no qual o genótipo homocigoto para mutação (GG) atua, possivelmente, como fator protetor para o desenvolvimento do priapismo na AF.

92. ASSOCIATION OF MBL2 GENE HAPLOTYPES RELATED TO THE LEVELS OF MANNOSE-BINDING LECTIN (MBL) AND PRIAPISM IN PATIENTS WITH SICKLE CELL ANEMIA

Pinto MSAR^{a,b}, Belmont TFM^c, Vasconcelos LRS^d, Domingos IF^e, Martins DAP^e, Araújo AS^a, Cavalcanti MDSM^{b,c}, Bezerra MAC^{a,e}, Moura P^b

^a Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brazil

^b Faculdade de Ciências Médicas, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brazil

^c Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Recife, PE, Brazil

^d Instituto do Fígado de Pernambuco (IFP), Recife, PE, Brazil

^e Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

Introduction: Sickle-cell anemia (SCA) is considered a chronic inflammatory disease. The mechanism of vaso-occlusion is responsible for most of the signs and symptoms of SCA, among them priapism, which is defined as a prolonged and painful penile erection unaccompanied by sexual stimulation persisting for more than four hours. MBL, which is encoded by the gene *MBL2*, is one of the most important constituents of the innate immune system that modulates the inflammatory response. **Objective:** The aim of the study was to investigate the association of *MBL2* gene polymorphisms with the occurrence of priapism in patients with SCA. **Methodology:** One hundred and forty-nine patients with SCA were evaluated. Patients were separated into two groups: 62 patients who had priapism cases and 87 patients without priapism, who were classified as the control group. The molecular analysis was performed by real-time polymerase chain reaction (PCR). The comparison of patients and controls was performed using the c2 test with Yates correction, with significance level of $p < 0.05$. **Results:** The population was in Hardy-Weinberg equilibrium. The priapism in patients with SCA is associated with the genotype related to intermediate/low expression of MBL compared with genotypes related to high expression of MBL ($p = 0.04$). **Conclusion:** The results suggest that the polymorphism of MBL, associated to levels and structural composition, appears to influence the development of the pathology of priapism in patients with SCA.

93. INVESTIGAÇÃO DOS POLIMORFISMOS SOD2 (VAL-16ALA) (RS4880) E GPX-3 T-518C (RS8177406) NA SUSCEPTIBILIDADE À OCORRÊNCIA DA DOENÇA CEREBROVASCULAR EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Domingos IF^a, Medeiros RLB^a, Martins DAP^a, Laranjeira RSM^a, Hatzlhofer BLD^a, Belmont TFM^b, Cavalcanti MDSM^a, Araújo AS^c, Lucena-Araujo AR^a, Bezerra MAC^a

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

^b Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: O acidente vascular cerebral (AVC) é uma complicação catastrófica da doença falciforme e uma das principais causas de morte em crianças e adultos. Isoladamente, o AVC é responsável por 20% dos óbitos de crianças falciformes entre 5-10 anos; além disso, 70% dessas crianças que desenvolveram o AVC apresentam déficit motor e significante déficit cognitivo. Por causa do grave risco e da alta incidência do AVC na AF, aumenta-se a necessidade de testes prognósticos que possam identificar precocemente pacientes que apresentam alto risco de desenvolver o AVC, de forma que medidas preventivas poderão ser tomadas, para evitar que os pacientes sofram complicações. Espécies reativas de oxigênio (ERO) podem causar danos significativos nos eritrócitos e reduzir seu período de vida útil, em especial nos portadores de AF. Apesar de os processos bioquímicos normais do corpo humano levarem à formação de ERO, enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD) e a glutatona peroxidase (GPx), neutralizam a ação dessas radicais e evitam o dano celular. Desse modo, polimorfismos em genes relacionados ao estresse oxidativo podem modular os eventos clínicos da AF, como o AVC. **Objetivo:** Avaliar a associação dos polimorfismos nos genes SOD2 (rs4880) e GPx-3 (rs8177406), relacionados ao estresse oxidativo, com a susceptibilidade à ocorrência da doença cerebrovascular em pacientes com anemia falciforme acompanhados no HEMOPE. **Material e métodos:** Foram incluídos 271 pacientes com AF, classificados de acordo com o desenvolvimento da doença cerebrovascular. Desses, 71 apresentaram registro de imagem com lesão neurológica e/ou manifestações clínicas decorrentes do AVC e definiram o grupo-caso do presente estudo. Como controles, foram estudados 140 pacientes maiores de 18 anos que não apresentaram evidências sintomáticas de lesão neurológica, além de exame de imagem que confirmou a ausência. Por fim, 60 pacientes apresentaram um exame de imagem alterado, porém sem desenvolvimento do AVC, e definiram o grupo de faixa de risco para o AVC. A pesquisa dos polimorfismos SOD2(Val-16Ala) (rs4880) e GPx-3 T-518C (rs8177406) foi feita por reação em cadeia da polimerase (qPCR). As análises estatísticas foram feitas pelo teste exato de Fisher e teste de qui-quadrado com o *software* SPSS 19.0. **Resultados:** O polimorfismo SOD2(Val-16Ala) (rs4880) apresentou resultados estatisticamente significativos ($p = 0,0392$), quando os três grupos foram comparados independentemente. De modo semelhante, resultados estatisticamente significativos foram encontrados (Odds Ratio (OR) = 0,49; intervalo de confiança (IC) = 0,2814-0,8531; $p = 0,0135$) quando a análise foi feita com apenas dois grupos (caso + faixa de risco X controle), o que caracterizou o alelo selvagem Val como protetor para o desenvolvimento do AVC. Em relação ao polimorfismo GPx-3 T-518C (rs8177406), nenhum resultado estatisticamente significativo foi encontrado ($p = 0,3006$, quando comparados os três grupos de maneira independente, e $p = 0,1721$, quando a análise foi feita com apenas dois grupos). **Conclusão:** Apenas o polimorfismo SOD2(Val-16Ala) (rs4880) apresentou influência como modulador genético para a prevalência do AVC em nossa população de pacientes com AF.

94. ACOMPANHAMENTO DO FERRO CARDÍACO PELA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E FERRITINA SÉRICA CONFORME TIPO DE QUELAÇÃO EM PACIENTES PORTADORES DE TALASSEMIA

Chapchap EC^a, Assis RA^a, Kerbauy LN^a, Diniz MS^a, Ribeiro AAF^a, Kays FU^a, Rosemberg LA^a, Nomura CH^a, Loggeto SR^b, Junior AF^c, Mattos VRP^a, Araújo AS^a, Baldanzi GR^a, Veríssimo MPA^a, Steagall MA^a, Espósito BP^b, Tricta Fⁱ, Fernandes JLⁱ, Velloso CAGDS^g, Fertrin KY^j, Santos DFPS^a, Hamerschlag N^a

^a Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

^b Centro de Hematologia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^c Hemocentro, Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA), Marília, SP, Brasil

^d Fundação Hemocentro de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil

^e Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^f Instituto Boldrini de Campinas, Campinas, SP, Brasil

^g Associação Brasileira de Talassemia (Abrasta), São Paulo, SP, Brasil

^h Instituto de Química, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

ⁱ Apotex Advancing Generics, Toronto, Canadá

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

Introdução: A causa mais comum de morte em pacientes com talassemia maior é a insuficiência cardíaca secundária à sobrecarga de ferro por múltiplas transfusões. Esse quadro pode ser prevenido ou revertido com uso de quelação de ferro. A decisão terapêutica costuma ser baseada nos níveis de ferritina, que parece não ter correlação direta entre os achados com o grau de depósito de ferro tecidual. Nesse contexto, torna-se difícil a decisão do melhor tipo de quelação e o momento ideal de intensificação dessa terapia, cuja adesão é difícil, os efeitos colaterais são importantes e há ainda uso de métodos invasivos no monitoramento. O T2* miocárdio pela ressonância magnética (RM) passa a ser fundamental para diagnóstico e seguimento desses pacientes. **Objetivo:** Avaliar a evolução da sobrecarga férrica cardíaca e ferritina conforme os tipos de quelação propostos pelo protocolo clínico brasileiro (Abrasta e TIF). **Material e métodos:** Estudo prospectivo observacional de 157 pacientes com talassemia maior. Desses, 56 apresentavam hemossiderose cardíaca (T2* miocárdio < 20ms), seguidos em uso de quelação de ferro conforme protocolo brasileiro com duas avaliações sequenciais de RM e ferritina com intervalo médio de 1,6 ano. Todos os pacientes assinaram termo de consentimento. As análises estatísticas foram feitas com os testes de Wilcoxon e Mann-Whitney para distribuição não normal. **Resultados:** Os pacientes apresentavam idade média de 21 anos, eram 56% mulheres e 34% homens. A distribuição dos quelantes no grupo com hemossiderose cardíaca foi: 41% deferoxamina, 27% deferasirox, 28,5% terapia combinada (deferoxamina e deferiprone) e 3,5% deferiprone isoladamente. As medianas de ferritina sérica (ng/mL) na primeira RM entre os grupos com e sem hemossiderose cardíaca foram: 2.595 e 1.810 (p = 0,0063). Pelas análises interquartis, menos de 25% daqueles com hemossiderose cardíaca apresentavam ferritina inferior a 1.600. De acordo com curva ROC, que compara sensibilidade (S) e especificidade (E) do valor da ferritina em prever a sobrecarga cardíaca, o melhor ponto é entre 2.137 e 2.262 (S 78% e E 42%). No grupo com sobrecarga cardíaca, a mediana do T2* foi 9,8ms e a melhoria anual das medianas do T2* miocárdio foi 1.0 ms.ano (p = 0,0001). Não houve diferença estatística na melhoria da sobrecarga de ferro cardíaca conforme o tipo de quelante. **Conclusão:** O estabelecimento de valores de corte de ferritina sérica em pacientes talassêmicos com idade média de 20 anos sem disfunção cardíaca pode orientar o melhor momento para a primeira RM cardíaca e reduzir o número de falsos negativos. Esse valor é entre 2.137 e 2.262. Independentemente do tipo de quelação, o fato de estar quelando conforme o protocolo brasileiro mostrou melhoria significativa da hemossiderose cardíaca, porém inferior à descrita na literatura: 1.0 ms.ano versus 1.5 ms.ano. A dificuldade de aderência à quelação e o número de pacientes comprometem a comparação entre os tipos de quelantes na melhoria do ferro cardíaco.

95. OS UNIVERSITÁRIOS DO NOSSO CAMPUS SABEM O QUE É TRAÇO FALCIFORME? RESULTADOS DE UMA CAMPANHA DE DIVULGAÇÃO SOBRE O TRAÇO FALCIFORME EM RUBIÃO JUNIOR, BOTUCATU

Lisboa MS, Santos AG, Almeida MO, Hokama POM, Hokama NK

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Introdução: O traço falciforme (TF) é a forma assintomática e heterozigótica para a hemoglobina S. A detecção do TF permite a orientação e o aconselhamento genético para o risco de um casal ter um filho com anemia falciforme (AF), a forma patológica dessa alteração genética. Segundo o Censo de Educação Superior 2010, o Brasil tinha mais de seis milhões de universitários matriculados naquele ano. Como a maioria tem entre 18 e 24 anos, entendemos que estão na faixa ideal para campanha de divulgação sobre o TF. Como a detecção neonatal de hemoglobinopatias foi iniciada em 2001, essa geração não foi testada e a maioria deve desconhecer sua condição de ser portador ou não do TF. O Campus Universitário de Rubião Junior é um dos 23 campi da UNESP e é frequentado por alunos de graduação e pós-graduandos dos cursos de medicina, enfermagem, ciências biológicas, ciências biomédicas, física médica, nu-

trição, veterinária, zootecnia, agronomia e engenharia florestal. **Objetivo:** Avaliar o conhecimento de alunos dos cursos de graduação e pós-graduação do Campus de Botucatu sobre o TF por meio de aplicação de questionário, pré e pós esclarecimento, sobre o traço falciforme. **Material e métodos:** Após treinamento e capacitação de três acadêmicas do curso de enfermagem da Faculdade de Medicina de Botucatu, elaboramos a estratégia de trabalho, cartazes e folders. Submetemos o projeto à Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu e recebemos a aprovação. Escolhemos o gramado da Biblioteca do Campus de Rubião Junior como ponto de divulgação, pelo fato de ser o cruzamento dos diversos cursos. Abordamos os passantes e solicitamos a participação no trabalho. Orientamos sobre o TF e os principais aspectos, a saber: o TF é condição assintomática hereditária de pessoas portadoras da hemoglobina AS, diferente do padrão normal AA; pessoas com TF podem transmitir o gene para sua descendência; no caso de casais nos quais ambos são portadores do TF há possibilidade de terem filhos com anemia falciforme, uma doença grave; quantos exames laboratoriais são feitos para a detecção do traço falciforme. Os alunos foram convidados a responder questionário pré e pós-intervenção e examinar os tópicos citados, a fim de avaliar a apreensão do conteúdo abordado. **Resultados:** Analisamos os resultados de 52 alunos que concordaram em responder ao questionário pós-intervenção. O aluno mais jovem tinha 17 anos e o mais velho, 38, e eram 16 homens e 36 mulheres. Perguntados se já tinham ouvido falar do traço falciforme, 13 indivíduos responderam que sim, quatro homens e nove mulheres. Nessa população, 32 de 52 questões (61%) foram respondidas corretamente. Nos questionários das 39 pessoas entrevistadas que desconheciam o que era o traço falciforme, 76 das 156 questões foram respondidas corretamente, o que corresponde a 48% dos acertos. A aplicação dos testes pós-intervenção evidenciou acertos de praticamente 100% das questões, o que mostra a efetividade da comunicação estabelecida. **Conclusão:** Mesmo em uma população de universitários na qual a maioria está matriculada em cursos de biologia e áreas de saúde, o desconhecimento sobre o TF é grande. Porém, o aprendizado na intervenção demonstrou eficácia da estratégia usada.

96. POLIMORFISMO D371Y DO GENE MASP2 E SUAS ASSOCIAÇÕES COM OS EVENTOS VASO-OCCLUSIVOS EM CRIANÇAS COM ANEMIA FALCIFORME

Medeiros FS^{a,b}, Belmont TFM^c, Silva AS^b, Vasconcelos LRS^d, Ó KPD^b, Martins DAP^e, Araújo AS^a, Cavalcanti MDMS^{b,c}, Bezerra MAC^c, Moura PMMF^b

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

^b Faculdade de Ciências Médicas e Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

^c Programa de Doutorado da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Recife, PE, Brasil

^d Instituto do Fígado de Pernambuco (IFP), Recife, PE, Brasil

^e Universidade Federal de Pernambuco (UFP), Recife, PE, Brasil

Introdução: Os mecanismos que colaboram para a vaso-oclusão nos pacientes com anemia falciforme (AF) incluem inflamação, adesão de leucócitos ao endotélio vascular, injúria endotelial, bem como ativação da coagulação e das vias do sistema complemento (SC). Assim, estudos relacionados com proteínas da imunidade inata envolvidas no processo inflamatório podem esclarecer a patogenia da vaso-oclusão. A MBL é uma proteína da imunidade inata que pode remover células falcizadas, diminuir a inflamação formada no endotélio e, conseqüentemente, minimizar os eventos vaso-oclusivos (EVOs). No entanto, a MBL funciona como uma molécula adaptadora que quando ligada ao seu alvo ativa a serino proteases 2 associadas à MBL (MASP-2), responsável pela clivagem dos fragmentos C2 e C4 para formar a C3 convertase (C4bC2a), com função de ativar o SC. À medida que a compreensão da fisiopatologia da doença evolui, os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) de genes que codificam proteínas envolvidas na ativação do SC podem elucidar os mecanismos que ocorrem durante a vaso-oclusão. **Objetivos:** Verificar se existe associação do polimorfismo D371Y do gene MASP2 com a ocorrência dos EVOs em crianças com AF. **Material e métodos:** A análise do SNP D371Y (rs12711521) do MASP2 foi feita por PCR em tempo real com sondas Taqman® Genotyping Assays (ID: C__22271950_20). O critério de significância usado foi de p < 0,05. Os dados clínicos e laboratoriais foram obtidos pela análise de prontuários dos pacientes com AF, que compareceram regularmente ao ambulatório, participantes do programa de triagem

neonatal diagnosticados na Fundação HEMOPE, de 2002 a 2013. **Resultados:** Foram analisadas 177 crianças, com média de 6 anos (\pm 2,43) e 51,4% ($n = 91$) eram do sexo masculino. A população estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A frequência dos genótipos do SNP D371Y foi de 52 (29,38%) genótipo AA; 98 (55,37%) AC e 27 (15,25%) CC. A frequência do genótipo CC, encontrada em nossos pacientes, está de acordo com a literatura de pacientes com doenças inflamatórias. Em uma análise preliminar não foi encontrada associação entre os genótipos do SNP D371Y do MASP2 e a presença de EVOs em crianças com AF ($p = 0,5979$). **Conclusão:** Os dados obtidos sugerem que esse polimorfismo parece não ser um marcador prognóstico de EVOs em crianças com AF. Por conseguinte, estão sendo recrutados mais pacientes. Além disso, outros SNPs do MASP2 serão analisados, a fim de compreender a influência desse marcador na resposta inflamatória para o desenvolvimento da lesão vascular em pacientes com AF.

97. INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES IL1RN E IL10 NA SUSCEPTIBILIDADE À OCORRÊNCIA DA DOENÇA CEREBROVASCULAR EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Medeiros RLB^a, Domingos IF^a, Martins DAP^a, Hatzlhofer BLD^a, Neto PLF^a, Belmont TFM^a, Cavalcanti MDSM^b, Araújo AS^c, Lucena-Araujo AR^a, Bezerra MAC^a

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

^b Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: O acidente vascular cerebral (AVC) é uma das complicações da anemia falciforme (AF) que causam maior morbimortalidade e pode acometer 25% dos portadores da doença. A AF, por apresentar vaso-oclusões recorrentes e consequente ativação do endotélio vascular, induz uma resposta inflamatória contínua, caracterizada por níveis elevados de mediadores inflamatórios. Estudos demonstram que a ativação de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias pode estar relacionada ao desenvolvimento e à evolução do AVC e caracterizar os polimorfismos em genes inflamatórios como possíveis moduladores desse evento clínico. Entre os genes polimórficos possivelmente implicados na patogênese do AVC estão o IL1RN e o IL10. O antagonista ao receptor de interleucina 1 (IL-1RN) é uma citocina anti-inflamatória que bloqueia a ligação da IL-1 com o seu receptor e impede o aumento da expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais, assim como a síntese de citocinas pró-inflamatórias. A interleucina 10 (IL-10) é uma citocina anti-inflamatória secretada por linfócitos e monócitos responsável por contrabalançar os efeitos do TNF- α e outras moléculas pró-inflamatórias. Assim, considerando que pacientes com AF apresentam quadros clínicos variados que dificultam a tomada de decisão terapêutica e de cuidados de saúde em geral, a identificação de padrões biológicos que influenciem na modulação fenotípica é útil na melhoria da sobrevida e da qualidade de vida dos doentes. **Objetivo:** Avaliar a associação dos polimorfismos nos genes IL1RN e IL10 (rs1800896), relacionados à inflamação, com a susceptibilidade à ocorrência da doença cerebrovascular em pacientes com anemia falciforme. **Material e métodos:** Foram incluídos 271 pacientes com AF, classificados de acordo com o desenvolvimento da doença cerebrovascular. Desses, 71 apresentaram registro de imagem com lesão neurológica e/ou manifestações clínicas decorrentes do AVC e definiram o grupo-caso. Como controles, foram estudados 140 pacientes maiores de 18 anos, que não apresentaram evidências sintomáticas de lesão neurológica, além de exame de imagem que confirmou a ausência. Por fim, 60 pacientes apresentaram um exame de imagem alterado, porém sem desenvolvimento do AVC, e definiram o grupo de faixa de risco para o AVC. A pesquisa do polimorfismo VNTR no gene da IL1RN foi feita por PCR, seguida da análise de repetições, e a detecção do polimorfismo IL10-1082 G/A (rs1800896) foi feita por PCR em tempo real (qPCR). As análises estatísticas foram feitas pelo teste exato de Fisher e teste de qui-quadrado com o software SPSS 19.0. **Resultados:** O polimorfismo IL10-1082 G/A (rs1800896) não apresentou resultado estatisticamente significativo ($p = 0,5897$) quando comparados os três grupos de maneira independente e quando a análise foi feita envolvendo apenas dois grupos (caso + faixa de risco x controle) ($p = 0,6806$). Em relação ao polimorfismo VNTR do IL1RN, nenhum resultado estatisticamente significativo foi encontrado ($p = 0,9280$, quando comparados os três grupos de maneira independente, e $p = 0,7993$, quando a análise foi feita envolvendo apenas dois grupos). **Conclusão:** Os polimorfismos estudados parecem não estar asso-

ciados com a susceptibilidade ao desenvolvimento do AVC em nossa amostra de pacientes com AF.

98. ASSOCIATION OF POTASSIUM SERUM LEVELS WITH CLASSICAL MARKERS RELATED TO THE HEMOGLOBIN SC DISEASE SEVERITY

Pacheco APAS^a, Goncalves MS^{a,b}

^a Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brazil

^b Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brazil

Introduction: Hemoglobin SC disease (HbSC) presents clinical endpoints arising from the hemolysis, as well as chronic inflammation and homeostatic imbalance, which induces vascular occlusion. Potassium (K⁺) participates in the pathophysiology of the disease, since its efflux from erythrocytes containing hemoglobin C induces dehydration, and consequently hemoglobin S (HbS) polymerization. Therefore, the present study aims was to evaluate the serum levels of K⁺ in a group of HbSC patients, associated with classical markers of disease severity. **Methods and Results:** This study evaluated 110 HbSC individuals prospectively. They were submitted to hematological and biochemical markers evaluation, with analyses of lipid profile, hemolysis, liver and kidney damage, and inflammation markers, in addition to K⁺ and phosphorus concentrations. K⁺ was positively correlated with white blood cells ($r = 0.2916$, $p = 0.0034$), lymphocytes ($r = 0.2644$, $p = 0.0082$), monocytes ($r = 0.2370$, $p = 0.0182$), platelets ($r = 0.4889$, $p < 0.0001$), total cholesterol ($r = 0.2521$, $p = 0.0118$), low density lipoprotein cholesterol ($r = 0.2953$, $p = 0.0030$), phosphorus ($r = 0.2447$, $p = 0.0277$), total proteins ($r = 0.2415$, $p = 0.0160$), ferritin ($r = 0.2263$, $p = 0.0283$), C-reactive protein ($r = 0.2369$, $p = 0.0222$), and HbS ($r = 0.2474$, $p = 0.0135$). K⁺ had a negative correlation with red blood cells ($r = -0.2076$, $p = 0.0392$), and fetal hemoglobin ($r = -0.2328$, $p = 0.0204$). **Conclusion:** According to these results, it is suggested that K⁺ acts on the homeostatic and inflammatory components of the HbSC disease, and can be involved in atherosclerotic events, which may represent an increased risk of vascular occlusion in these patients in view of the vascular compromise.

99. INVESTIGAÇÃO DOS POLIMORFISMOS NOS GENES DO FATOR V DE LEIDEN (G1691A), PROTROMBINA (G20210A) E METILENOTETRAHIDROFOLATO REDUTASE (C677T) EM PACIENTES PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME DE MANAUS-AM

Carneiro JS^a, Tezza LC^a, Brito RS^a, Lima RR^a, Pontes MO^a, Oliveira MAA^b, Bacha TJ^c, Goncalves MS^d, Albuquerque SRL^a, Neto JPM^b

^a Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brasil

^b Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

^c Centro de Instrução de Guerra na Selva (CIGS), Manaus, AM, Brasil

^d Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

Introdução: As hemoglobinas variantes S (HbS) e C (HbC) são as mais prevalentes na população brasileira e os homocigotos SS são portadores da anemia falciforme. Estudos têm demonstrado importante papel dos polimorfismos C677T-metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR), G1691A-fator V de Leiden e G20210A-protrombina em eventos de tromboembolismo e cardiovasculares, comorbidades essas de relevância clínica em pacientes portadores de anemia falciforme. **Objetivo:** Investigar o papel desses polimorfismos em pacientes portadores de anemia falciforme atendidos na Fundação HEMOAM. **Material e métodos:** Dados clínicos foram obtidos aleatoriamente de 89 pacientes pela consulta ao prontuário médico. Para esses, foi feita busca ativa para nova coleta de sangue, na qual se fizeram análises hematológicas e bioquímicas e confirmação do genótipo SS por cromatografia líquida de alta performance (HPLC)-Biorad. O DNA genômico foi isolado de leucócitos com o Qiamp DNA Mini Kit (Qiagen). Para a determinação dos polimorfismos foi usado o equipamento StepOnePlus Real-Time PCR System. O gênero feminino foi mais frequente em nosso estudo, com 63,7% das amostras. A idade apresentou média para o gênero masculino de 20,06 \pm 13,16 e feminino de 20,68 \pm 12,37 e de hemoglobina fetal de 12,21 \pm 15,57 e 9,93 \pm 7,98, respectivamente. **Resultados:** A frequência dos polimorfismos en-

contrados foi: C677T (61,8 selvagens, 25,8% heterozigotos e 12,4% homozigotos); G20210A (97,8 selvagens e 2,2 heterozigotos), e G1691A (100% selvagens). Por causa dos dados moleculares encontrados, correlações entre os dados hematológicos, bioquímicos e clínicos somente foram feitas para os genótipos da C677T e não demonstraram dados com significância estatística para os parâmetros hematológicos e bioquímicos. Todavia, dos pacientes que evoluíram para acidente vascular cerebral, 15,6% apresentam o polimorfismo, enquanto 3,7 foram selvagens ($p = 0,045$). Além disso, 6,3% pacientes portadores do C677T desenvolveram insuficiência cardíaca, enquanto nenhum selvagem ($p = 0,043$). **Conclusão:** Nossos resultados corroboram a literatura. O polimorfismo C677T exerce papel importante na ocorrência de eventos vasculares e cardiovasculares em portadores de anemia falciforme. No entanto, entendemos que o aumento da amostragem em nosso estudo seja essencial para confirmação do papel não somente nesses eventos clínicos como para toda clínica que acomete indivíduos com anemia falciforme, bem como doença falciforme.

100. ÍNDICE DE GRAVIDADE NA DOENÇA FALCIFORME

Lima LM^a, Alves AFA^a, Pereira GA^a, Martins PRJ^{a,b}, Silva SS^{a,b}

^a Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brasil

^b Hemocentro Regional de Uberaba, Fundação Hemominas, Uberaba, MG, Brasil

Introdução: A doença falciforme apresenta uma evolução heterogênea, com um curso inflamatório crônico permeado de eventos agudos que elevam a morbimortalidade. **Objetivo:** Calcular um índice de gravidade baseado em pontuações de eventos clínico-hematológicos e verificar a associação de intercorrências clínicas com esses índices. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo. Foi construído **score** A, B, C e IS-X para classificar a gravidade clínica. Os **scores** A, B, C foram baseados no trabalho de Tweel (2010), avaliado ao longo da vida. **Score A:** 1 ponto para osteonecrose, acidente vascular cerebral (AVC), priapismo, meningite e sequestro esplênico; 1 ponto para presença de eventos de 2008 e 2012, como síndrome torácica aguda (STA) e crise vaso-oclusiva (CVO) e 1 ponto se hemoglobina basal $\leq 6,6$ g/dL. **Score B:** osteonecrose e priapismo, 1 ponto; AVC, meningite e sequestro esplênico, 10 pontos; presença de eventos de 2008 e 2012, como STA e CVO, 1 ponto e 1 ponto se nível de hemoglobina basal $\leq 6,6$ g/dL. **Score C:** osteonecrose e priapismo, 10 pontos; AVC, meningite e sequestro esplênico, 50 pontos; eventos de 2008 e 2012, como STA, 10 pontos se um episódio e 20 pontos para dois ou mais; CVO, 5 pontos se um episódio, 10 pontos para dois ou mais; e 5 pontos se hemoglobina basal $\leq 6,6$ g/dL. O **score** IS-X (El-Hazmi, 1990/1992) considera, para seu cálculo, dados acumulados ao longo da vida, como: osteonecrose, osteomielite, AVC, tromboembolismo venoso, esplenectomia, meningite e insuficiência cardíaca, receberam 0,6 e 12 pontos se ausente, presente e maior ou igual a 2 do mesmo evento, respectivamente; para cada evento clínico de 2008 e 2012, como CVO, úlcera de perna, colelitíase, sequestro esplênico, priapismo, STA, hepatomegalia, esplenomegalia, transfusões sanguíneas e hospitalizações, foi atribuído 1 ponto e o valor total dividido pelo tempo de seguimento. À hemoglobina basal foram dados 0, 4, 8 e 12 pontos para valores > 10 g/dL, 8-9,9 g/dL, 6-7,9 g/dL e < 6 g/dL respectivamente. **Resultados:** Foram avaliados 107 pacientes do Hemocentro Regional de Uberaba/Fundação Hemominas. A associação entre número de hospitalizações (NH) e os **scores** A, B, C e IS-X, todos apresentaram relação diretamente proporcional com o NH, mas apenas os **scores** A ($p = 0,02080$) e IS-X ($p = 0,01462$) foram estatisticamente significativos. Ao verificar a associação entre número de transfusões (NT) e os **scores** A, B, C e IS-X, todos apresentaram relação diretamente proporcional com o NT e todos foram estatisticamente significativos. Ao verificar a associação entre número de crises vaso-oclusivas e os **scores** A, B, C e IS-X, todos apresentaram relação diretamente proporcional com o número de CVO, mas apenas o **score** A foi estatisticamente significativo ($p = 0,00237$). Ao verificar a associação entre os tipos de hemoglobinopatias e os **scores** A, B, C e IS-X, o padrão SS se mostrou mais grave e estatisticamente significante nos **scores** A, C e IS-X. De acordo com a árvore de classificação, o IS-X foi o índice que melhor explicou a gravidade. **Discussão:** O **score** IS-X foi o melhor preditor de gravidade, com uma menor correlação e menor grau de dependência com os A, B e C. **Conclusão:** Classificamos os pacientes de acordo com a gravidade da doença e individualizamos o tratamento para aqueles com maior grau de morbimortalidade, a fim de melhorar a qualidade de atendimento. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

101. ASSOCIATION OF TNF AND IL10 POLYMORPHISMS WITH SEA AND VOC IN CHILDREN WITH SICKLE CELL ANEMIA

Vasconcelos CMM^a, Belmont TFM^a, Silva AS^a, Laranjeira LPM^b, Domingos IF^b, Medeiros FS^a, Araújo AS^c, Bezerra MAC^b, Moura PMMF^a, Cavalcanti MDSM^a

^aFaculdade de Ciências Médicas, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^bUniversidade de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^cFundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brazil

Sickle cell anemia (SCA) results from a replacement of glutamic acid by valine at position-6 of the beta chain of the globin. The modified hemoglobin (HbS) polymerizes at low oxygen tension, causing the deformation of the erythrocytes, vessel obstruction, and consequential decrease in blood flow and tissue damage. The vaso-occlusive events (VOE) in SCA are mediated by erythrocytes, leukocytes, inflammation, endothelium injury, and coagulation pathway activation. SCA characterized by chronic inflammatory manifestations and high levels of inflammatory cytokines in the circulation has been described for VOE. Single nucleotide polymorphisms (SNP) of the *TNFA* and *IL10* gene may be involved in SCA pathophysiology by modulating progression. The aim of this study was to determine the frequency of the *TNFA* -308 gene SNP (rs1800629) and the *IL10* gene -1082 (rs1800896), -819 (rs1800871), and -592 (rs1800872) in SCA patients and investigate associations with VOE. The SNP analyzes were performed using real-time polymerase chain reaction (PCR) TaqMan[®] technique. The study analyzed 191 children treated in neonatal screening in the HEMOPE Foundation, Recife, Brazil, in the period of 2002 to 2012; median age was 7 (± 3) years, and 52.36% were males. Association was found between *TNFA* -308 gene SNP and SEA occurrence in children with SCA ($p = 0.044$, OR: 2.46, IC: 1.02-5.98). The data also shown that the *IL10* gene low production haplotypes were associated with VOC presence when compared with intermediate production haplotypes ($p = 0.024$, OR: 1.12-6.48). The polymorphisms appear to contribute to the SCA severity. However, further studies determining serum levels of TNF- α and IL-10 are necessary for a better understanding of the inflammatory mechanisms and vessel occlusion present in this disease. **Keywords:** Sickle cell anemia; TNF- α ; IL-10; vasoocclusive events.

102. ASSOCIAÇÕES DOS POLIMORFISMOS SOD2, CAT-01 E GPX-1 COM OS EVENTOS VASO-OCCLUSIVOS EM CRIANÇAS COM ANEMIA FALCIFORME

Belmont TFM^a, Silva AS^b, Medeiros FS^b, Vasconcelos CMM^b, Vasconcelos LRS^c, Domingos IF^d, Bezerra MAC^d, Araújo AS^e, Moura PMMF^b, Cavalcanti MDSM^{a,b}

^aPrograma de Doutorado, Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Recife, PE, Brasil

^bFaculdade de Ciências Médicas e Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

^cInstituto do Fígado de Pernambuco (IFP), Recife, PE, Brasil

^dUniversidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: Anemia falciforme (AF) é uma doença genética hereditária causada por uma mutação circunstancial que resulta na substituição do aminoácido GluVal no resíduo 6 da β -globina. Como resultado, a hemoglobina A (HbA) é substituída pela hemoglobina pela HbS, a qual sofre polimerização sob baixa tensão de oxigênio, leva à falcização do eritrócito e causa eventos vaso-oclusivos (EVO). A isquemia-reperfusão recorrente com consequente ativação e injúria do endotélio vascular induz a contínuas respostas inflamatórias na AF que se traduzem por níveis elevados de citocinas inflamatórias e estresse oxidativo. Espécies reativas de oxigênio (ERO) podem causar lesões em eritrócitos e diminuir seu período de vida útil. Alteração na defesa às ERO pode desempenhar um papel na gravidade da clínica desses pacientes e estudos sugerem que os mecanismos de defesas antioxidantes estão afetados em pacientes com AF. O gene SOD2 codifica a superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD), uma enzima mitocondrial que dismuta os ânions superóxidos em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e, posteriormente, a catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GPx) dismutam o H₂O₂ em oxigênio (O₂) e água (H₂O), o que diminui o potencial lesivo causado pelas EROs. Polimorfismos de nucleotídeo único

(SNPs) nos genes das enzimas antioxidantes, como SOD2, CAT-01 e GPx-01, têm sido associados a alterações da atividade dessas enzimas, o que prejudica a desintoxicação dessas EROs e, conseqüentemente, pode modular as manifestações clínicas da AF. **Objetivo:** Verificar a existência de associação dos polimorfismos dos genes SOD2, CAT-01 e GPx-01 com EVO em crianças com AF. **Material e métodos:** Os polimorfismos do SOD2 (rs4880), CAT-01 (rs1001179) e GPx-01 (rs1050450) foram feitos por meio de PCR em tempo real. A análise do polimorfismo do GPx-01 foi feita por meio do sistema de detecção de SNP Taqman®, com os primers 5'-CATCGAAGCCCTGCTGTCT-3' e 5'-CACTGCAACTGCCAAGCA-3' e sondas marcadas 5'-FAM-ACAGCTGAGCCCTT-MGB-3' (alelo T) e 5'-VIC-ACAGCTGGGCCCTT-MGB-3' (alelo C). A análise dos polimorfismos SOD2 e CAT-01 usou a metodologia Taqman Genotyping Assays (ID: C_8709053_10 e ID: C_11468118_10, respectivamente). **Resultados:** Foram analisados 182 pacientes para CAT-01 e GPx-01 e não foi encontrada associação em crianças com AF ($p = 0,41$ e $p = 0,78$, respectivamente). Para o SOD2, foram avaliados 179 pacientes e foi observada uma maior frequência do alelo Ala (Val/Ala+Ala/Ala) nos pacientes que apresentavam EVO ($p = 0,03$ OR = 3,42, IC = 1,08-11,05). **Conclusão:** Os resultados sugerem que o polimorfismo do SOD2 associado a alterações estruturais e atividade da MnSOD pode contribuir para o esclarecimento dos fatores relacionados à evolução clínica da AF. **Palavras-chave:** Anemia falciforme, CAT-01, GPx-1, SOD2, polimorfismos, eventos vaso-oclusivos.

103. PREGNANCY-RELATED MICROANGIOPATHIC HEMOLYTIC ANEMIA – CASE REPORT

Landau MB, Akil F, Leite AAT, Baptista G, Cunha MO, Bulak R, Júnior CACA, Kelly L, Patricio TF, Dantas GLN, Palma LMP

Hospital Naval Marcílio Dias, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

A 20-year-old Caucasian primigravida in the 34th week was admitted with malaise, hypertension, headache, and lower extremity edema. Blood count demonstrated anemia (Hb 9.2 g/dL), thrombocytopenia (9 K/uL), high lactate dehydrogenase (LDH) 1135 UI/L (ULN: 256-500 UI/L), normal liver function, and high creatinine (1.5 mg/dL). She had proteinuria +/+, reticulocytosis, normal coagulation and schistocytosis in peripheral blood smear. A diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) was likely. ADAMTS13 activity was collected. Treatment was started with plasma infusion (PI) 30 mL/kg/day, daily plasma exchange (PEX) with 1-1.5 volume replacement of cryoprecipitate-poor plasma, and immunosuppression with methylprednisolone (1 g/day for three days). On the second day, a cesarean section was performed with pre transfusion of apheresis platelets and no abnormal bleeding. The baby had fetal distress but survived without damage. One day postpartum, she continued with hypertension and had worse lung function, requiring oxygen therapy. There was a mild improvement, but platelet count decreased and LDH rose after seven sessions of PEX. Another steroid pulse was performed in association with Rituximab (375 mg/m²/week - 4x). Six days after the first Rituximab, platelet count was 219 K/uL and PEX was spaced until it was stopped after 18 sessions. At least a 24-hour interval was provided between Rituximab and PEX. Plasma infusion was decreased. Renal impairment ensued (creatinine 1.9 mg/dL) but no hemodialysis was needed. Red blood transfusions were made. ADAMTS13 activity was low (10%) and inhibitor antibodies were detected suggesting an acquired TTP. After 22 days, the patient was discharged in use of prednisone 80 mg/day, which was progressively tapered without relapse until now. TTP is a rare, acute, potentially life-threatening disorder characterized by microangiopathic hemolytic anemia (MAHA), thrombocytopenia, and clinical consequences of microcirculation thrombosis in multiple organs. It is caused by ADAMTS13 deficiency, which can be mediated by autoantibodies against -acquired - or by mutational disorder in the ADAMTS13 gene - congenital. The latter type can be present in childhood or even in pregnancy. TTP is more common in white females in the third or fourth decade of life. The treatment consists of daily PEX with minimum one plasma volume replacement, immunosuppression with drugs such as corticosteroids, and, even CD20 antibodies against B cells - Rituximab. Up to 10-25% of TTP cases occur during pregnancy or postpartum. Usually they are congenital and presented at the third semester or postpartum. Fetal loss normally happens in the trimester, associated with placenta dysfunction like widespread ischemia. There is a risk of relapse in subsequent pregnancies. Monitoring the ADAMTS 13 activity at start of pregnancy and at least once each trimester is recommended in acquired cases. In women with history of acquired non-pregnancy TTP, plasma therapy must be initiated if ADAMTS

13 < 10% with weekly PEX and oral steroids. For those with history of congenital TTP associated gestation, treatment is PI (10 mL/kg) from 8 to 10 weeks gestation every two weeks in combination with low dose aspirin, and then weekly after the 20th week. Delivery is at 36-38 weeks. In any stage, therapy is increased if platelets count is < 150K/uL. Rituximab seems to be of value as preemptive therapy before gestation in women with history of acquired TTP and low ADAMTS 13 activity, resulting in less frequent relapse.

104. DISTRIBUIÇÃO DO PERFIL DE HEMOGLOBINAS VARIANTES ENTRE DIFERENTES GRUPOS QUILOMBOLAS DA BAHIA

Oliveira RM^a, Santiago RP^a, Figueiredo CVB^a, Paz SS^b, Adorno EV^a, Barbosa CG^a, Ferreira JRD^a, Cardeal ALS^a, Carvalho SP^a, Gonçalves MS^{a,b}

^a Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

^b Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CpqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

Introdução: Os grupos quilombolas surgiram no Brasil com a colonização portuguesa. Dessa forma, os quilombolas eram constituídos por negros oriundos de diversos países africanos os quais não tinham direitos políticos e sociais. A partir da Constituição federal de 1988, o Estado começou a garantir às comunidades remanescentes de quilombos o direito a seu território e emitir títulos de posse. O programa Brasil Quilombola, existente no País desde 2004, tem como finalidade coordenar as ações governamentais para essas comunidades. Algumas dessas ações têm como objetivo a assistência à saúde dessas populações, uma vez que inúmeras patologias, como, por exemplo, as hemoglobinopatias, entre elas a anemia falciforme (AF) e a doença falciforme (DF), estão fortemente presentes nesse grupo populacional. **Objetivo:** Investigar a frequência de hemoglobinas variantes entre os grupos quilombolas localizados no Estado da Bahia. **Material e métodos:** Foi desenvolvido um estudo de corte transversal que envolveu indivíduos de comunidades remanescentes de quilombos, situadas no Estado da Bahia, na região Nordeste. Todos os participantes foram informados sobre o objetivo da pesquisa, responderam aos questionários para levantamento dos dados socioeconômicos e assinaram o termo de consentimento livre esclarecido. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa. Para determinar o perfil de hemoglobina foram coletadas amostras de sangue que foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A análise estatística foi feita com o programa GraphPad Prism, v. 5.02 e foi considerado estatisticamente significativa $p < 0,05$. **Resultados:** Foram estudadas 1.246 crianças remanescentes de quilombos. Ressalta-se que a Bahia, por apresentar uma forte relação com o continente africano, apresentou casos de DF nas comunidades quilombolas. A frequência de hemoglobinas variantes foi de 10,5%, enquanto a frequência encontrada no Estado do Pará foi de 5,7%. Quando analisamos as condições socioeconômicas dessas comunidades, percebemos que muitas residências têm iluminação precária, sem energia elétrica, o que faz com que a população local recorra a lâmparas com querosene. Também se observou a alta taxa de analfabetismo não funcional. No entanto, esses municípios têm uma elevada distribuição do Produto Interno Bruto, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Ao se pesquisar o perfil de hemoglobina dessas comunidades quilombolas, percebeu-se que a Bahia apresentou uma maior taxa de indivíduos com hemoglobinas variantes com a OR 1,542; IC 95% 1,161-2,049 e OR 2,039; IC 95% 1,155-3,599, respectivamente. **Conclusão:** O presente estudo mostra um perfil socioeconômico baixo em comunidades quilombolas do Estado da Bahia, com uma distribuição específica de hemoglobinas variantes, o que poderia representar diferentes migrações dentro do próprio Estado da Bahia. Salienta-se que serão necessários outros estudos que envolvam grupos quilombolas para, assim, elucidar o impacto clínico desses resultados.

105. ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE MBL2 COM O DESENVOLVIMENTO DE ÚLCERAS DE PERNA EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Farias ICC^a, Falcão DA^a, Domingos IF^a, Belmont TFM^b, Vasconcelos LRS^c, Araujo ARL^a, Araújo AS^d, Cavalcanti MDSM^b, Moura PMMF^b, Bezerra MAC^a

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

^b Faculdade de Ciências Médicas e Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco (UFP), Recife, PE, Brasil

^c Instituto do Fígado de Pernambuco (IFP), Recife, PE, Brasil
^d Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil

Introdução: As úlceras de membros inferiores são uma das manifestações clínicas mais comuns na anemia falciforme (AF), doença monogênica, de caráter multifatorial e com grande diversidade clínica entre os pacientes. Estão presentes em 8% a 10% dos pacientes homocigotos e atingem percentual maior do que 50% em pacientes que residem em áreas tropicais. Essas úlceras ocorrem por causa da vaso-oclusão, hipóxia tecidual, hemólise e de fatores genéticos e apresentam cicatrização lenta e alta taxa de recorrência, além de grande susceptibilidade à infecção. Recentemente, alguns estudos têm evidenciado uma relação positiva do sistema complemento no desenvolvimento de algumas doenças vasculares e de lesões como as úlceras de membros inferiores em pacientes não falciformes. A MBL (lectina ligadora de manose) é um importante componente do sistema imune inato humoral e tem características que indicam uma participação essencial na cicatrização, modula a resposta inflamatória e participa do combate a patógenos. Em um estudo recente, os pacientes com úlcera apresentaram uma dosagem significativamente menor de MBL. Polimorfismos nesse gene estão relacionados com uma diminuição dos níveis séricos dessa proteína, que aumenta os riscos do desenvolvimento das úlceras de membros inferiores, ou ainda de sua manutenção, além de diminuir a capacidade de combater as infecções, tão comum nessas lesões. **Objetivo:** Determinar a frequência dos polimorfismos da região promotora -221 (Y/X) e -550 (H/L) e do éxon 1 do MBL2 em pacientes com AF que apresentaram úlceras de membros inferiores em nossa população. **Material e métodos:** A amostra foi constituída de 100 pacientes casos e 175 pacientes controles. Usamos como critérios de inclusão para os casos: pacientes portadores de AF não relacionados, acompanhados no Hospital de Hematologia da Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), com histórico atual ou prévio de úlcera de membros inferiores. O grupo de controles foi constituído de portadores de AF acima de 18 anos que nunca apresentaram úlceras. Análise molecular foi feita por PCR em tempo real. **Resultados:** Após análise estatística, concluiu-se que a população se encontrava em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A frequência alélica dos haplótipos relacionados à alta produção de MBL (HYA, LYA) foi 54,5% nos casos e de 62,9% nos controles. Nos genótipos relacionados à baixa produção de MBL (HYO, LYO) nos casos e controles foi de 27,5% e 18,6%, respectivamente. A frequência do genótipo relacionado à produção intermediária de MBL (LXA) foi de 18% nos casos e 18,5% nos controles. Ao analisar cada polimorfismo isoladamente, não tivemos resultados estatisticamente significativos. Ao fazer uma análise fenotípica, entre alta produção e baixa produção de MBL, foi visto que os pacientes com úlceras apresentam menores níveis dessa proteína ($p = 0,0192$). Estamos focados especificamente num possível papel da deficiência de MBL em complicações de cicatrização, com base nos fatos de que a deficiência de MBL é o distúrbio imunológico mais comum e que uma das principais causas para a cicatrização lenta dessas úlceras é a infecção ou colonização por bactérias. **Conclusão:** A deficiência de MBL parece aumentar o risco de desenvolvimento de úlceras de membros inferiores. **Palavras-chave:** Anemia falciforme, úlceras de perna, MBL2.

106. O RESULTADO DO EXAME DE URINA SOFRE INFLUÊNCIA DA PRESENÇA DO TRAÇO FALCÊMICO

Kang HC, Isaías L, Ribeiro GS, Kanaan S, Strogoff J, Lugon JR, Rosa MLG

Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Introdução: A anemia falciforme e o traço falciforme frequentemente podem cursar com hipostenúria, conforme já descrito na literatura. Mas não há dados sobre os demais elementos que fazem parte do corriqueiro exame de urina em amostra única quanto aos demais metabólitos e íons presentes na urina. **Objetivo:** Comparar as densidades urinárias, os sedimentos, os metabólitos e os íons dos portadores de hemoglobinopatia S com aqueles não portadores, em uma população multiétnica, atendida pela atenção primária. **Material e métodos:** Foi selecionada uma amostra de 592 indivíduos adultos, com idade ≥ 30 anos, sem grau de parentesco consanguíneo, que participaram do Projeto Camélia. Eles foram alocados em dois grupos: Hb AS ($n = 33$) portadores de Hb AS e Hb AA ($n = 559$) de não portadores de hemoglobinopatia S. Amostras da primeira urina da manhã foram analisadas logo após a entrega do material. As análises convencionais foram feitas com fitas reativas e leitora automatizada, au-

tomado em bioquímica e hematologia. A pesquisa de hemoglobina S foi feita com sangue total colhido com EDTA, pelo método de eletroforese de hemoglobina. Os testes estatísticos foram feitos com o auxílio do programa SPSS for Windows versão 17. **Resultados:** Como esperado, a densidade urinária e a creatinina urinária estavam reduzidas nos portadores de traço falcêmico. As análises bioquímicas da urina apresentaram valores médios significativamente menores ($p < 0,05$) de sódio, cálcio e ácido úrico entre os portadores de Hb AS. Essas diferenças desaparecem quando corrigimos todos os valores pela creatinina urinária. Ainda apresentavam negatividade ou normalidade significativamente maior em quase todos os itens analisados na tira reagente, exceto urobilinogênio urinário, e menor percepção do aumento de componentes do sedimento urinário. **Conclusão:** A menor densidade urinária reflete a menor reabsorção de água, indicativo de disfunção tubular. Isso resulta em maior diluição dos solutos e metabólitos presentes na urina daqueles que apresentam traço falcêmico.

107. TRIAGEM NEONATAL PARA HEMOGLOBINOPATIAS NO ESTADO DE PERNAMBUCO

Lima ASM^a, Firmino GO^a, Silva DTF^a, Prado LPL^b, Fernandes LCL^a, Oliveira RD^a, Cauais EMC^a, Albuquerque TCC^a, Bezerra MAC^b, Coutinho IMP^a

^a Laboratório de Triagem Neonatal, Laboratório Central de Saúde Pública, Recife, PE, Brasil

^b Laboratório Central do Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

Introdução: A doença falciforme decorre de uma mutação circunstancial no gene da β -globina que leva à produção de uma hemoglobina anômala – a hemoglobina S (Hb S). O termo doença falciforme se aplica a um grupo de desordens genéticas, caracterizado pela presença da hemoglobina S: em homocigose (Hb SS), também chamada de anemia falciforme; em heterocigose com outras hemoglobinas variantes (Hb SC, Hb SD-Punjab etc.) ou, ainda, em interação com as talassemias (Hb S/ β^0 talassemia, Hb S/ β^+ talassemia, Hb SS/ α talassemia). Sua fisiopatologia é caracterizada pela polimerização da HbS, que leva à formação de uma hemácia em forma de foice. Essa hemácia falcizada leva à hemólise e à vaso-oclusão, que são responsáveis pelas principais manifestações clínicas da doença. Apresenta elevada morbidade e mortalidade e necessita de identificação e tratamento precoces. Associando isso ao fato de ter uma alta prevalência no Brasil, o diagnóstico da doença falciforme pelos testes de triagem neonatal passou a ser obrigatório em todo o País desde 2001. Em Pernambuco, atualmente, a rede da Triagem Neonatal pelo SUS faz a triagem de cerca de 70% das crianças nascidas no estado e conta com a participação dos postos de coleta espalhados pelos diversos municípios do estado e do Laboratório Central de Saúde Pública de Pernambuco (Lacen-PE), responsável pela operacionalização dos testes. Uma vez diagnosticada a doença falciforme, a criança deve ser levada para o serviço de referência em hemoglobinopatias do estado com o intuito de iniciar o tratamento preventivo das manifestações clínicas. **Objetivo:** Avaliar o perfil hemoglobínico dos neonatos triados no Lacen-PE entre junho de 2010 e dezembro de 2013. **Material e métodos:** Foram analisados retrospectivamente os resultados das amostras colhidas em papel-filtro entre junho de 2010 e dezembro de 2013. A metodologia empregada foi a de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com o kit Sickle Cell da empresa Bio-Rad. **Resultados:** No período deste estudo, 343.377 recém-nascidos (RN) foram triados no Lacen-PE. Desses, 334 (0,09%) foram considerados inconclusivos por causa da prematuridade ou transfusão de concentrado de hemácia no período anterior à coleta. Das 343.043 crianças com resultado conclusivo, 96,42% (330.760/343.043) apresentaram perfil hemoglobínico normal (FA/AF), enquanto os 3,58% (12.283/343.043) restantes apresentaram hemoglobina variante em heterocigose ou homocigose: 10.185 (2,97%) apresentaram fenótipo FAS/AFS; 1.890 (0,55%) FAC/AF; 53 (0,015%) FAD; três (0,00088%) FAE; 102 (0,03%) FS; nove (0,026%) FC; 29 (0,0084%) FSC; 10 (0,0029%) FSA; duas (0,0006%) FCA. **Conclusão:** A alta frequência da Hb S observada na nossa população de crianças triadas pode ser explicada pelo histórico de colonização e imigração de negros africanos no período colonial, uma vez que as mutações que caracterizam as hemoglobinopatias são advindas do continente africano. Considerando as formas graves das hemoglobinopatias, a frequência elevada de heterocigotos e a possibilidade de tratamento precoce, a triagem neonatal dessas patologias se torna de extrema importância para a comunidade, a fim de possibilitar aconselhamento genético, proporcionar

informações necessárias a respeito do planejamento familiar e permitir o tratamento precoce e a melhoria da qualidade de vida dos doentes.

108. ESTUDO DOS PERFIS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE CRIANÇAS QUILOMBOLAS EM UM MUNICÍPIO NO ESTADO DA BAHIA

Santiago RP^a, Oliveira RM^a, Figueiredo CVB^a, Paz SS^b, Adorno EV^a, Ferreira JRD^a, Barbosa CG^a, Miranda FN^a, Goncalves MS^{a,b}

^a Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

^b Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

Introdução: As hemoglobinopatias têm uma prevalência mundial elevada, de acordo com a origem geográfica do grupo investigado. No Brasil, um país com uma população miscigenada por causa da ativa imigração de povos ocorrida, essa distribuição é heterogênea. Em populações quilombolas, por causa da origem africana, encontram-se indivíduos com presença de hemoglobinas variantes, em especial as HbC e HbS. A importância de se conhecer o perfil bioquímico/hematológico de uma determinada população tem despertado o interesse governamental, visto que esses dados auxiliam na implantação de políticas públicas, bem como fornecem subsídios para o desenvolvimento de pesquisas que possam melhorar a saúde pública em geral. **Objetivo:** Identificar e avaliar os parâmetros bioquímico e hematológico de crianças com diferentes perfis de hemoglobina variante em uma comunidade quilombola no Estado da Bahia. **Material e métodos:** Foi feito um estudo de corte transversal, que envolveu crianças de comunidades remanescentes de quilombos, localizadas no município de São Francisco do Conde. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, da Fundação Oswaldo Cruz. Os responsáveis pelas crianças assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e as análises bioquímicas e hematológicas foram feitas no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFBA. A análise estatística foi feita no programa GraphPad Prism, versão 5.02. Foram analisadas 39 crianças diagnosticadas com perfil de HbAC e 31 com perfil de HbAS e comparadas com 169 crianças diagnosticadas com HbAA, na mesma faixa etária. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. **Resultados:** Fizeram parte do estudo inicialmente 900 crianças, 483 (54%) do sexo masculino e 417 (46%) do feminino. A mediana de idade foi de nove anos (8-11), 75 foram portadoras de hemoglobinas variantes, 31 (3,4%) HbAS, 39 (4,3%) HbAC, três (0,3%) HbSC, uma HbCC (0,1%) e uma HbSS (0,1%). Foram feitas análises comparativas dos parâmetros hematológicos entre as crianças com os perfis de hemoglobinas HbAA, HbAC e HbAS. Entre as crianças HbAA, HbAS e HbAC, o nível de HbF foi mais elevado para o perfil HbAC ($p = 0,0022$; Kruskal-Wallis). Também se encontrou significância ao se comparar o número de hemácias entre os diferentes perfis de Hb (HbAA = $4,7 \times 10^6$ /mL; HbAS = $4,9 \times 10^6$ /mL; HbAC = $5,1 \times 10^6$ /mL $p = 0,0003$; Kruskal-Wallis). Ao correlacionar os índices hematimétricos VCM, HCM e RDW entre os três grupos de crianças estudadas, encontrou-se um valor de $p < 0,0001$ para o VCM e o HCM e um valor de $p = 0,0072$ para o RDW (Kruskal-Wallis). O valor absoluto de leucócitos entre esses grupos também foi estatisticamente significativo, $p = 0,045$ (Kruskal-Wallis). Ao analisar os parâmetros bioquímicos, a concentração de creatinina entre HbAA, HbAC e HbAS foi mais elevada para o perfil HbAC ($p = 0,01$, Kruskal-Wallis). **Conclusão:** De acordo com os resultados apresentados, a avaliação dos portadores de hemoglobinas variantes em comunidades quilombolas pode fornecer dados importantes para o acompanhamento desses indivíduos, bem como auxiliar na elaboração de políticas públicas nesses grupos populacionais.

109. SUCESSO NO TRATAMENTO DE ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE COM BAIXAS DOSES DE RITUXIMABE

Rabelo IB, Bordin JO, Barros MO, Arrais C, Yamakawa PE, Pivaro MF

Escola Paulista de Medicina (EPM), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Anemia hemolítica autoimune (AHAI) é definida como aumento da degradação de eritrócitos na presença de autoanticorpos. É uma entidade rara que pode ser idiopática (50%) ou secundária (linfoproliferações, doenças reumatológicas). Dois terços dos pacientes têm idade superior a 50 anos e a maioria dos casos de AHAI de etiologia idiopática ocorre no gênero feminino. O tratamento da AHAI ainda não é fortemente basea-

do em evidências (corticosteroides, imunossuppressores, esplenectomia). O uso do anticorpo monoclonal anti CD-20 – Rituximabe – tem sido reportado com sucesso nos casos tanto iniciais quanto de recaídas. **Material e métodos:** Revisão de prontuários dos pacientes em seguimento regular no ambulatório de anemias adquiridas da EPM/UNIFESP. **Resultados:** Existem 42 pacientes em seguimento regular no Ambulatório de Anemias Adquiridas da EPM/UNIFESP. Todos são portadores de AHAI idiopática, já descartadas infecções virais concomitantes, doenças linfoproliferativas ou reumatológicas. Desses 42, cinco mostraram-se corticoides dependentes ou corticorresistentes nos últimos 12 meses. Caso 1: Mulher, 39 anos, AHAI a quente, resposta adequada à Prednisona 1 mg/kg/dia, com três recaídas prévias durante as reduções gradativas da medicação. Fez esplenectomia (Hb pré: 10,2; Hb pós sete dias: 14,2 g/dL) e mantém remissão completa quatro meses após procedimento. Caso 2: Mulher, 33 anos, AHAI a quente, duas recaídas prévias durante redução gradativa de Prednisona (que chegou a 2 mg/kg/dia), sempre que a dose da medicação chegava a 20 mg/dia. Recebeu Rituximabe 100 mg/semana, quatro semanas (Hb pré: 9,8; Hb pós 60 dias: 11,0 g/dL) com estabilidade da hemoglobina, sem hemólise clínico-laboratorial pós 70 dias da infusão. Caso 3: Mulher, 37 anos, AHAI a quente, duas recaídas prévias durante redução gradativa de Prednisona (que chegou a 2 mg/kg pós-pulsoterapia com Metilprednisolona 1 g/dia, três dias), a primeira com Prednisona 10 mg/dia e a segunda com Prednisona 40 mg/dia. Recebeu Rituximabe 100 mg/semana, quatro semanas (Hb pré: 10,2; Hb pós 30 dias: 12,1 g/dL) e mantém remissão pós 60 dias da infusão. Caso 4: Homem, 24 anos, AHAI idiopática a frio, duas recaídas prévias durante redução gradativa de dose da Prednisona (que chegou a 1 mg/kg/dia com Metilprednisolona ao diagnóstico, 1 g/dia, três dias), com 20 mg/dia do corticosteroide nas duas ocasiões. Recebeu Rituximabe 100 mg/semana, quatro semanas (Hb pré: 10,7; Hb pós 30 dias: 13,9) em remissão pós 90 dias da infusão. Caso 5: Homem, 79 anos, primeira infusão de Rituximabe 100 mg/semana, quatro semanas, com remissão completa (média Hb 14,5 g/dL) por 10 meses. Recaída com nova infusão de Rituximabe mesmas doses (Hb pré: 5,6; Hb pós: 12,3 g/dL), mantendo remissão após 90 dias da infusão. **Discussão:** O tratamento da AHAI com Rituximabe ainda tem poucos **trials**, mas já demonstra resultados consistentes e promissores. As doses fixas da medicação viabilizam seu uso nos serviços públicos e minimizam os efeitos adversos catastróficos da manutenção de altas doses de corticosteroides ou de outros imunossuppressores, bem como da exposição cirúrgica pela esplenectomia. Os índices de resposta com Rituximabe nessa dose chegam a 82% até o segundo mês, com sobrevida livre de recaídas de 100% nos próximos seis meses, especialmente para AHAI a quente. **Conclusão:** Todos os pacientes tiveram resposta satisfatória, sem efeitos adversos graves. Maior seguimento faz-se necessário.

110. POLIMORFISMOS GÊNICOS HPA1 E HPA2 NOS RECEPTORES DE MEMBRANA PLAQUETÁRIA GPIB E GPIIIA EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME DE SALVADOR-BAHIA

Cardeal ALS^a, Carvalho SP^a, Mendes KO^a, Barreto JC^a, Yahouedehou SCMA^a, Ferreira JRD^a, Veloso NS^a, Rocha LC^b, Goncalves MS^c, Adorno EV^a

^a Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

^b Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado da Bahia (HEMOBA), Salvador, BA, Brasil

^c Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é decorrente da homozigose para hemoglobina S (HbS), cujas manifestações clínicas levam a alterações em diversos órgãos e tecidos, com a presença de hemólise contínua e fenômenos vaso-oclusivos (VO). Os complexos de glicoproteínas (GPs) presentes na membrana das plaquetas estão associados à adesão, ativação, agregação e imunogenicidade plaquetária, além da expressão aumentada e função alterada dessas GPs e, consequentemente, à alteração do processo de hipercoagulabilidade e da formação do trombo. **Objetivo:** Caracterizar os polimorfismos nos genes GPs da membrana plaquetária HPA1 da GPIb e HPA2 da GPIIIa em um grupo de indivíduos de Salvador com AF e correlacioná-los aos dados hematológicos e bioquímicos. **Material e métodos:** Foram estudados 81 indivíduos com AF atendidos na Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA), os quais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido; as análises estatísticas foram feitas no programa EpiInfo v 6.04 e foram considerados estatisticamente significativos os resultados com valor de $p < 0,05$. A mediana de idade dos pacientes foi de 12 anos (3-18)

e a concentração média de hemoglobina fetal foi de $9,98 \pm 6,43\%$. **Resultados:** A frequência alélica do polimorfismo HPA1 foi de 69,29% para o alelo A e de 30,71% para o alelo B, e a frequência de heterozigose foi de 58,57%; para o polimorfismo HPA2, a frequência alélica foi de 77,63% para o alelo A, de 22,37% para o alelo B e de 26,36% para a heterozigose. Para o HPA1, os indivíduos portadores do alelo B demonstraram níveis aumentados de VPM ($p = 0,025$, Anova); para o HPA2, o alelo B esteve associado à redução das bilirrubinas total e direta e de TGO ($p = 0,022$; $p = 0,046$, e $p = 0,040$, respectivamente, Anova) e elevação de creatinina em relação aos indivíduos homocigotos AA ($p = 0,008$, Anova). A presença do alelo B nos indivíduos que apresentaram os polimorfismos HPA1 e HPA2 concomitantemente esteve associada a valores reduzidos de VPM e RDW, contagens menores de monócitos e concentrações diminuídas de bilirrubinas total, direta e indireta ($p = 0,025$; $p = 0,016$; $p = 0,041$; $p = 0,026$; $p = 0,004$ e $p = 0,009$, respectivamente, Anova). **Conclusão:** O estudo sugere a participação de polimorfismos nos genes GPIIb e GPIIIa, não somente associados à ativação plaquetária, mas também em outros parâmetros bioquímicos, tais como marcadores de hemólise e de lesão hepática e renal nos indivíduos com AF. Espera-se que o conhecimento desses marcadores, bem como sua associação com a expressão desses receptores na superfície da plaqueta, possa auxiliar no estabelecimento de fatores relativos ao prognóstico e contribuir para o aumento da sobrevida e da qualidade de vida dos indivíduos com AF. **Palavras-chave:** Anemia falciforme; polimorfismos; plaquetas; glicoproteínas.

111. TALASSEMIA ALFA DEL.3.7 KB, CRISES OCLUSIVAS E NÍVEIS DE HEMOGLOBINA FETAL: ESTUDO EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME NA MICRORREGIÃO SUL DA BAHIA

Aleluia MM^a, Guarda C^a, Fonseca TCC^b, Neves Fl^b, Souza RQ^b, Gomes LGS^c, Neto JPM^d, Santana PRM^e, Gonçalves MS^a, Cerqueira BAV^{a,e}

^a Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

^b Centro de Referência em Doença Falciforme de Itabuna (CERDOFI), Itabuna, BA, Brasil

^c Universidade Estadual de Santa Cruz (Uesc), Santa Cruz, BA, Brasil

^d Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

^e Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Salvador, BA, Brasil

Introdução: A doença falciforme (DF) é uma desordem monogênica caracterizada pela anemia hemolítica crônica, maior suscetibilidade à infecção, oclusão vascular e por episódios dolorosos recorrentes. A alfa-talassemia del. 3.7kb constitui importante modulador genético na DF. Essa co-herança associa-se ao perfil viscoso em que se observa diminuição do perfil hemolítico, aumento na concentração de hemoglobina e melhoria da hipóxia tecidual, que reduzem os eventos de síndrome torácica aguda e priapismo, mas associa-se a aumento das crises de dor e retinopatia. **Objetivo:** Avaliar o perfil de marcadores clássicos de prognóstico, como a alfa-talassemia del. 3.7kb, e os níveis de hemoglobina fetal e associá-los com as características clínicas de pacientes com DF. **Material e métodos:** Um estudo transversal foi feito com inclusão de 117 pacientes com DF (idade mediana de 15 anos, composto por 61 pacientes do gênero feminino) acompanhados no Centro de Referência de Doença Falciforme de Itabuna, assintomáticos e fora de terapia transfusional. Como critério de inclusão para pacientes em estado estável foi usada a ausência de hospitalização e de infecções no último mês. As características clínicas dos pacientes foram obtidas a partir da revisão dos prontuários médicos e 95% dos pacientes apresentaram pelo menos um evento de dor. **Resultados:** No grupo de pacientes com DF, 74,36% (87/117) foram caracterizados com anemia falciforme, enquanto 25,64% (30/117) com doença SC. A alfa-talassemia del. 3.7kb foi identificada em 18,8% dos pacientes com DF. O percentual mediano de hemoglobina fetal intraeritrocitária foi de $9,2 \pm 8,2$. Não encontramos diferença no número de eventos vaso-oclusivos quando comparamos os pacientes com e sem a co-herança com a alfa-talassemia del. 3.7kb. A associação entre o perfil clínico dos pacientes, os baixos níveis de hemoglobina fetal e a presença da alfa-talassemia del. 3.7kb não apresentou diferença estatística. **Conclusão:** O aumento no número de pacientes do estudo provavelmente caracterizará melhor o papel dos marcadores clássicos de prognóstico na doença falciforme.

112. ASSOCIAÇÃO ENTRE HEMOGLOBINA B2 (A2) E BETA-TALASSEMIA HETEROZIGOTA (CD39) – RELATO DE CASO

Domingos ALB^a, Estevão IF^b, Bonini-Domingos RC^c

^a Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^b Universidade Federal de São Carlos (UFSC), São Carlos, SP, Brasil

^c Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: As anemias microcíticas e hipocrômicas mais comuns são a anemia ferropriva, a anemia de doença crônica e as talassemias. A anemia por deficiência de ferro é a mais comum das alterações nutricionais no mundo e ocorre como resultado de perda sanguínea crônica, perdas urinárias, ingestão e/ou absorção deficiente. A diminuição dos níveis plasmáticos de ferro limita a eritropoese. As talassemias são anemias hereditárias causadas por uma deficiência parcial ou completa da síntese de cadeias globínicas. Nos casos de talassemia beta menor, 90% dos portadores apresentam a concentração de Hb A₂ elevada. A associação com a anemia ferropriva pode levar a uma concentração normal de Hb A₂, por causa da interferência da baixa concentração de ferro na síntese de globina, que é um fator de confusão para o diagnóstico. Para que esse seja feito, em anemias microcíticas e hipocrômicas, são necessários exames que avaliem o metabolismo do ferro, a eletroforese de hemoglobinas e a amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW), para inferir a anisocitose eritrocitária. Outra situação bastante comum no Brasil, por causa da miscigenação, é a associação de beta-talassemia com variantes. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente do sexo masculino, branco, com episódios de dores ósseas, especialmente no quadril. **Relato de caso:** Na ocasião da primeira consulta (1999), os exames laboratoriais de rotina apresentaram valores dentro da normalidade, exceto pela Hb A₂ aumentada em eletroforese alcalina. Em 2005 retornou ao clínico com queixa de atraso no desenvolvimento. Novos exames foram solicitados e destacamos os valores de: Hb 10 g/dL, Ht 31,4%, RDW 14,9%, ferritina de 53,9 ng/mL, TGO, TGP e DHL aumentados. Foram solicitados, também, exames complementares e de imagem. No entanto, o paciente só retornou em 2007. Nessa ocasião, foram refeitos o hemograma e os exames complementares, e persistiu a anemia microcítica hipocrômica (Ht 35,4%, Hb 11,8 g/dL, RDW 15,6%). Foi então solicitado o estudo completo de hemoglobinas e observou-se presença de Hb A₂ normal (3,5%); alterações morfológicas características de talassemia, como microcitose e hipocromia; presença de fração, em eletroforese alcalina, na posição de variante de cadeia delta. A partir desse quadro laboratorial, foram feitos HPLC, que confirmaram a presença de variante de cadeia Delta e a concentração de Hb A₂ normal; análise de cadeias globínicas evidenciou a presença dos mutantes de cadeia delta e provável cadeia beta; e estudos de biologia molecular, que mostraram a co-herança de variante de cadeia delta – Hb B₂ e beta-talassemia zero – CD39 em heterozigose. **Conclusão:** A presença dessas alterações de hemoglobinas reflete a miscigenação da população brasileira. A Hb B₂ é de origem africana e a beta-talassemia, de origem mediterrânea. Destacamos a importância da investigação das microcitoses e hipocromias, com maior detalhamento possível, especialmente em populações multi-étnicas como a brasileira, pois, além de associação com deficiência de ferro, podem ocorrer combinações de hemoglobinas alteradas, como esse caso de variante africana com talassemia. A associação entre Hb B₂ e talassemia beta é pouco relatada e não há informação sobre outros casos descritos no Brasil. Pela composição da população brasileira, é de se esperar outros casos com essa combinação de mutantes de genes globina.

113. ANÁLISE DE HEMOGLOBINA A2 POR HPLC PARA ESTABELECIMENTO DE VALORES DE REFERÊNCIA EM PACIENTES COM PRESENÇA DE HBS E/OU TALASSEMIA

Mattos PJSM, Lima AMB, Takahashi EK, Nobre GG, Leão MC, Gualberto RCR, Palmeira MK, Ferreira MDS, Francês LTVM

Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (HEMOPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: Nas doenças falciformes, as medições de hemoglobina A2 ajudam no diagnóstico diferencial da anemia falciforme da S/β-talassemia, além de serem um marcador auxiliar na identificação de talassemias. A HPLC de troca iônica é um método automatizado com maior eficiência e acurácia do que os procedimentos eletroforéticos, capaz de identificar e diferenciar várias hemoglobinas variantes de maneira rápida e precisa. O tempo de retenção das frações normais permite padronizar o tempo de eluição das variantes. Entretanto, pequenas variações no tempo de eluição da coluna cromatográfica podem levar a hemoglobina va-

riante a ser eluída em outra “janela”. Na presença de hemoglobinas variantes de cadeia β , como HbC e HbS, a HbA2 se apresenta ligeiramente aumentada. Whitten e Rucknagel (1981) sugeriram que esse aumento reflete a associação prejudicada de β -S com cadeias α e permite que mais cadeias α se associem com cadeias δ . A HbA2 dosada por HPLC se apresenta significativamente aumentada na presença de HbS por causa da coeluição dessas HbS. Tanto assim que as amostras homozigotas HbS (SS) podem ser erroneamente classificadas como HbS- β -talassemia. Dessa forma, apesar do ponto de corte de > 4% de HbA2 ser recomendado para a identificação de portadores de β -talassemia para métodos eletroforéticos, cada laboratório precisa estabelecer seus valores de normalidade para HPLC. **Objetivo:** Analisar as porcentagens de hemoglobina A2 detectadas no HPLC Primus Ultra2 em pacientes com presença de HbS e/ou talassemias para o estabelecimento de valores de referência nesse laboratório. **Material e métodos:** O estudo teve caráter retrospectivo e foi feito no Hemocentro do Pará (HEMOPA) com 507 pacientes, que fizeram o exame de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) para a identificação e quantificação de hemoglobinas A2 de 1º de abril a 30 de junho de 2014. Pacientes com histórico de transfusões recentes e crianças com menos de seis meses foram excluídos. Os diagnósticos dos pacientes foram confirmados no sistema de SBS. A equipe de pesquisa assinou termo de comprometimento com o sigilo dos dados dos pacientes. As análises estatísticas foram feitas no programa Bioestat com o teste de Kruskal-Wallis H com níveis de significância $p < 0,05$. **Resultados:** Os valores médios de HbA2 diferiram significativamente em todos os grupos com a presença de HbS comparados com o grupo AA. Os valores de Hb A2 foram semelhantes para os fenótipos portadores de HbS, exceto os de HbS/ β -talassemia; todos apresentaram valores superiores à faixa dos pacientes normais (0,90%-3,40%). Pacientes com HbS/ β -talassemia apresentaram valores médios de HbA2 mais elevados quando comparados com os portadores de HbS. Entretanto, pacientes com A/ β -talassemia apresentaram faixa de HbA2 semelhante à detectada em pacientes portadores de HbS. **Conclusão:** Os valores de Hb encontrados neste trabalho apontam a necessidade de avaliação mais minuciosa no diagnóstico das talassemias via HPLC e indicam novos valores de referência para HbA2 em portadores de S para esse laboratório. Quanto às talassemias, sugere estudo com maior número de talassêmicos para possível estabelecimento de valores de referência das S/ β -talassemias.

114. ASSOCIAÇÃO DO USO DE HIDROXIUREIA E MARCADORES HEMATOLÓGICOS EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME

Aleluia MM^a, Fonseca TCC^b, Neves FI^b, Souza RQ^b, Farias L^c, Gomes LGS^c, Neto JPM^d, Santana PRM^e, Goncalves MS^a, Cerqueira BAV^{a,e}

^aLaboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

^bCentro de Referência em Doença Falciforme de Itabuna (CERDOFI), Itabuna, BA, Brasil

^cUniversidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Santa Cruz, BA, Brasil

^dUniversidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

^eUniversidade do Estado da Bahia (UNEB), Salvador, BA, Brasil

Introdução: A incidência global de doença falciforme (DF) passou a representar um grave problema de saúde pública em muitos países, dentre eles o Brasil. Nesses indivíduos, a redução na taxa de hemoglobina total associada à acentuada reticulocitose caracteriza a gravidade da anemia hemolítica. Estudos têm demonstrado eficácia da hidroxiureia (HU) na DF que resulta na clínica mais branda, com redução de eventos vaso-oclusivos, menor contagem de leucócitos, redução do perfil hemolítico e aumento nas concentrações intraeritrocitárias de hemoglobina fetal. **Objetivo:** Avaliar o impacto da HU no tratamento de pacientes com DF. **Material e métodos:** Estudo transversal feito com 115 pacientes com DF, idade mediana de 15 anos, 61 do gênero feminino, acompanhados no Centro de Referência de Doença Falciforme de Itabuna, assintomáticos e fora de terapia transfusional. Como critérios de inclusão para pacientes em estado estável foi usada a ausência de hospitalização e de infecções no último mês. As características clínicas dos pacientes foram obtidas a partir da revisão dos prontuários médicos e 95% dos pacientes apresentaram pelo menos um evento de dor. **Resultados:** Observamos menor volume corpuscular médio dos eritrócitos dos pacientes em uso de HU ($p < 0,002$), redução na contagem global de leucócitos e plaquetas e aumento na concentração intraeritrocitária de hemoglobina fetal. **Conclusão:** O uso de hidroxiureia tem proporcionado melhor qualidade de vida e aumento da sobrevida em

indivíduos com DF e reduzido o número de internações e o período no ambiente hospitalar. Os efeitos benéficos da HU são claros. Entretanto, o acompanhamento em longo prazo e estudos consistentes são pertinentes, por causa da toxicidade desse quimioterápico, associado ao aumento da chance de eventos neoplásicos pós-tratamento.

115. PEDAGOGIA HOSPITALAR: NOVAS TENDÊNCIAS PARA A INCLUSÃO

Fernandes MTR, Oliveira DB

Hemocentro Regional de Juiz de Fora, Fundação Hemominas, Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: O direito à educação é constitucional, irrestrito, e por isso deve permitir o acesso à escolarização, mesmo das crianças/adolescentes hospitalizados e que são impossibilitados de frequentar a escola por curtos ou longos períodos. Nesse sentido, a pedagogia hospitalar firma-se como novo campo de trabalho para pedagogos e principalmente como um direito de atendimento do público infantil. **Objetivo:** Diante disso, a partir da observação diária da equipe multidisciplinar do Hemocentro Regional de Juiz de Fora/Fundação Hemominas, foi identificado grande número de pacientes infantis que fazem tratamento de hemoglobinopatias ou coagulopatias na instituição e que aguardavam ansiosamente os procedimentos médicos, além de inúmeras queixas em relação à aprendizagem dos pacientes. Foi criado pela instituição um espaço para acolhimento, recreação, atendimento pedagógico e orientação familiar sobre assuntos escolares. **Material e métodos:** O trabalho é feito por uma pedagoga e uma estagiária do curso de pedagogia da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e atende a uma média de cem pacientes por mês. **Resultados:** Por meio do encaminhamento da equipe multidisciplinar e de entrevistas com pacientes, são identificados os casos nos quais são necessárias as intervenções do setor de pedagogia, com a finalidade de sanar as dificuldades educacionais dos pacientes em decorrência das doenças de que são acometidos. Identificada a necessidade de intervenção, são elaboradas atividades diagnósticas e é feito contato com as escolas dos pacientes com o objetivo de informar as implicações das doenças e esclarecer dúvidas, além de obter informações sobre a vida escolar e traçar estratégias para um trabalho em parceria. Após essa etapa, são agendados os atendimentos, nos quais são desenvolvidas atividades pertinentes ao observado, com jogos e brinquedos para uma abordagem lúdica. São consideradas as especificidades e limitações de cada criança e desenvolvidas atividades que possibilitem o seu desenvolvimento pleno e atendam aos seus interesses, com o objetivo tornar a aprendizagem prazerosa. Nas datas comemorativas do ano, são feitos eventos que proporcionam, além de momentos agradáveis, o fortalecimento dos vínculos afetivos com a instituição e, conseqüentemente, uma maior adesão ao tratamento. O setor também faz parcerias com as secretarias de Educação do estado e do município visando à capacitação dos profissionais das escolas que têm matriculados os alunos atendidos pela instituição, para que possam conhecer as implicações das hemoglobinopatias e coagulopatias na vida pessoal e escolar da criança/adolescente. **Conclusão:** A importância dos serviços oferecidos pelo setor está em garantir a continuidade da escolarização dos pacientes, o aprendizado significativo, o retorno à escola sem maiores prejuízos, a melhoria na qualidade de vida e a autonomia. Faz-se necessário destacar a relevância social do trabalho da pedagogia hospitalar, uma vez que, por meio dela, é possível estimular os pacientes a assumirem sua condição de cidadãos perante uma sociedade que se pauta em indivíduos sadios e exclui aqueles que não se apresentam dessa forma. Para isso, é fundamental o desenvolvimento de um trabalho ético, que vá além da ludoterapia e que seja comprometido com os ideais de uma educação inclusiva, pautada no respeito aos direitos das crianças e adolescentes adoentados.

116. IMPACTO DA TRANSFUSÃO CRÔNICA NA VASCULOPATIA CEREBRAL: ANÁLISE DE 34 PACIENTES FALCIFORMES SEGUIDOS NO HEMOCENTRO DE RIBEIRÃO PRETO (SP)

Moraes CO^a, Silva-Pinto AC^a, Camilo M^b, Dotoli GM^a, Macedo MDCE^a, Angulo IL^a, Covas DT^a

^aHemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Departamento de Neurologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A vasculopatia cerebral é uma das complicações mais graves da doença falciforme e pode causar acidente vascular cerebral (AVC). O AVC ocorre em até 11% dos pacientes falciformes e é a principal causa de mortalidade e incapacidade no Brasil. Vários estudos têm demonstrado que o doppler transcraniano (DTC) é uma ferramenta bastante útil e segura para detectar crianças em alto risco de desenvolver AVC. Com base nas alterações de velocidade de fluxo nas artérias cerebrais detectadas pelo DTC, 39 pacientes falciformes foram colocados em esquema de transfusão crônica para reduzir a porcentagem de hemoglobina S circulante e minimizar a chance de AVC. **Objetivo:** Avaliar o impacto da transfusão crônica na vasculopatia cerebral e na incidência de AVC em pacientes com doença falciforme seguidas em nossa instituição. **Material e métodos:** Os resultados das ressonâncias magnéticas de encéfalo e angiorressonância antes e depois de um período médio de três anos de transfusão crônica foram comparados. **Resultados:** Dos 39 pacientes em transfusão crônica por vasculopatia cerebral/AVC, cinco estavam em transfusão crônica havia menos de dois anos e não haviam repetido o exame de ressonância. Portanto, 34 pacientes foram avaliados. Após um período médio de três anos de transfusão crônica, 10 pacientes (30%) tiveram melhoria do grau de vasculopatia cerebral pelo exame de angiorressonância, 17 (50%) mantiveram o mesmo grau de vasculopatia e sete (20%) tiveram progressão da vasculopatia. É interessante ressaltar que a maioria dos pacientes com pioria da vasculopatia já apresentava alterações compatíveis com síndrome de Moyamoya no primeiro exame, o que indicava vasculopatia grave. Em relação à incidência de novo episódio de AVC, somente dois pacientes que haviam suspenso uma transfusão crônica tiveram novo AVC, o que indica que a transfusão crônica é muito eficaz em reduzir a incidência dessa complicação. **Conclusão:** A transfusão crônica conseguiu atenuar ou estacionar a vasculopatia cerebral em cerca de 80% (27/34) dos pacientes analisados e, mesmo naqueles em que houve pioria da vasculopatia, impediu a ocorrência de um novo AVC, o que demonstra a eficácia dessa modalidade terapêutica no tratamento da vasculopatia falciforme. **Palavras-chave:** Doença falciforme, vasculopatia cerebral, AVC, transfusão crônica.

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

117. EMPHYSEMATOUS CYSTITIS IN A DIABETIC PATIENT WITH BONE MARROW APLASIA

D'elia A, Haydee B, Gustavo M, Mariana M, Carla N, Oriol S

Hospital Dr. Ramon Madariaga, Misiones, Argentina

Introduction: Emphysematous cystitis (EC) is a rare complication of lower urinary tract infection (UTI), which results from primary infection of the urinary bladder with gas producing pathogens. Acute bacterial cystitis in patients with diabetes mellitus, various neurogenic bladder diseases, and recurrent urinary tract infection may be associated with the formation of both intraluminal and intramural gas in the urinary bladder. Patients may have varied presentations, ranging from incidental diagnosis on abdominal imaging to severe sepsis. The authors report a case of EC in a diabetic patient with bone marrow aplasia. **Case report:** A 70-year-old woman presented to the emergency department complaining of lower abdominal pain and generalized weakness. Her past medical history was significant for type 2 diabetes mellitus, essential hypertension and bone marrow aplasia (treated with cyclosporin and corticosteroids). Six months earlier, the patient had been hospitalized for seven days with a diagnosis of bacteremic UTI. At admission, the patient was in no acute distress. Blood pressure was 140/90 mmHg, pulse 100/minute, and axillary temperature was 37.5°C. The physical examination was significant for mild suprapubic tenderness, without peritoneal signs. Laboratory evaluation revealed hematocrit 21%, WBC count 1,570/mm³ (73% polymorphonuclear), platelets 8,000/mm³. Ultrasonographic examination of the urinary system demonstrated normal sized kidneys. CT revealed thickened bladder wall, with intramural and intraluminal gas bubbles. Blood cultures obtained on admission were negative. Urine culture grew

10⁶ colonies of *Escherichia coli* sensitive to third-generation cephalosporins and piperacillin-tazobactam, and resistant to ampicillin and sulfas. The patient started empiric treatment with piperacillin/tazobactam for ten days. On the last follow-up, 30 days post-discharge, she was asymptomatic. **Discussion:** Emphysematous conditions are typically defined and diagnosed radiologically, and the incidence of reported cases is increasing with the increased use of abdomino-pelvic imaging and greater awareness of such diseases. The clinical presentation of EC is varied; patients can be asymptomatic, describe pneumaturia or irritative voiding symptoms, or present with an acute abdomen with severe sepsis. Patients with diabetes mellitus (two-thirds of reported cases), neurogenic bladder, recurrent UTI, and urinary stasis secondary to bladder outlet obstruction might be predisposed to complicated UTIs. *Escherichia coli* was the most prevalent organism (58%) reported in a large review. The treatment consists of antibiotics, bladder drainage, and glycemic control with correction of any underlying comorbid disorder. Patients not responding to medical management or those with severe necrotizing infections might require partial cystectomy, cystectomy, or surgical debridement. **Conclusion:** EC is the most common morbid gas-forming infection of the urinary tract. Suspicion of this disease should be aroused by abdominal pain in a diabetic patient, with or without a clinical presentation of UTI, especially when hematuria is present. For diagnosis, the authors recommend using CT, as it defines the severity and extent of the disease and allows an assessment of ascending infection. Treatment with appropriate intravenous antibiotics, urinary drainage, and control of underlying processes such as hyperglycemia are paramount to successful intervention.

118. ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO PARA AVALIAÇÃO DO EFEITO DE DOIS PROGRAMAS DE FISIOTERAPIA NAS DISFUNÇÕES MUSCULOESQUELÉTICAS DE PORTADORES DE DOENÇA FALCIFORME

Zanoni CT, Galvão F, Saad STO

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

Introdução: A doença falciforme é uma doença genética, que resulta em falção das hemácias e desencadeia fenômenos de vaso-oclusão, episódios de dor e lesão de órgãos. O comprometimento ósseo é a manifestação clínica mais comum e pode causar deficiências crônicas e progressivas, como a necrose avascular da cabeça femoral, principal causa de deformidade de quadril nesses pacientes, que leva a distúrbios na marcha e limitação de dor, nível de atividade e função. Raros são os estudos encontrados na literatura sobre a atuação da fisioterapia como recurso capaz de prevenir e tratar as disfunções do aparelho locomotor presentes nos indivíduos portadores de doença falciforme. **Objetivo:** Avaliar e comparar o efeito de dois programas de fisioterapia para pacientes portadores de doença falciforme visando a diminuir a dor musculoesquelética em região do quadril e coluna lombar e aumentar a funcionalidade desses pacientes. **Material e métodos:** Um dos programas foi a fisioterapia convencional feita em solo, comparado com um protocolo de exercícios feitos em piscina aquática. A pesquisa teve início com a avaliação dos voluntários a partir de escalas funcionais (Escala Lef's – Lower Extremity Functional Scale; Questionário Algorfuncional de Lequesne e Índice de Incapacidade de Oswestry), medida da amplitude de movimento articular (ADM) de flexão e extensão do tronco, flexão, extensão, adução e abdução do quadril, avaliação da força muscular (FM) de flexores e extensores do tronco, flexores, extensores, adutores e abdutores do quadril por meio de célula de carga e eletromiografia de superfície (EMGs) dos músculos iliocostais, longuíssimo dorsal, glúteo máximo, glúteo médio e tensor da fáscia lata. A amostra final foi constituída por 10 voluntários, randomizados para dois grupos diferentes: fisioterapia aquática (FA) e fisioterapia convencional (FC). O Grupo FA foi composto por cinco voluntários com mediana de idade de 42 (25-67) anos. O Grupo FC foi composto por cinco voluntários com mediana de idade de 49 (43-59) anos. Após a randomização, os voluntários dos dois grupos foram submetidos à intervenção com duração de 12 semanas, em duas sessões semanais, totalizando 24. Após a intervenção, os pacientes foram reavaliados para comparação dos resultados pré e pós-intervenção. Para a análise estatística foi usado o teste Anova para medidas repetidas com transformação por postos. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$). **Resultados:** A comparação de medidas numéricas entre os dois grupos ao longo do tempo mostrou diferença estatisticamente significativa após a intervenção para as variáveis: índice de Lequesne ($p = 0,0217$), índice de incapacidade de Oswestry ($p = 0,0112$), ADM de extensão do tronco ($p = 0,0320$), FM de

flexão do tronco ($p = 0,0459$) e FM de extensão ($p = 0,0062$) e abdução ($p = 0,0257$) do quadril. As variáveis Escala Lef's, ADM de flexão do tronco, ADM de flexão, extensão, adução e abdução do quadril, FM de extensão do tronco, FM de flexão e adução do quadril e todas as variáveis de EMGs não apresentaram diferença estatisticamente significativa. **Conclusão:** Esses resultados sugerem que a fisioterapia parece ser um recurso capaz de prevenir e tratar as disfunções musculoesqueléticas de pacientes com doença falciforme, independentemente da técnica usada.

119. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ECTO-NTPDASE EM LINFÓCITOS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Doleski PH, Castilhos LG, Santos CBD, Bertoldo T, Sequeira M, Leal DBR
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é a forma mais prevalente de hemoglobinopatias e com maior gravidade clínica e hematológica e está associada a um estado inflamatório sistêmico e crônico. Os nucleotídeos extracelulares ATP e ADP são moléculas sinalizadoras que modulam a resposta imunológica. Essa modulação ocorre por interação com os receptores P2X e P2Y presentes na membrana de linfócitos e exerce funções como ativação de linfócitos e proliferação celular. No controle da concentração dessas moléculas sinalizadoras no meio extracelular está a Ecto-NTPDase, responsável pela hidrólise do ATP e do ADP, que formam AMP. Sabendo-se que pacientes com anemia falciforme apresentam um quadro de inflamação sistêmica e crônica, e os nucleotídeos ATP e ADP podem modular a resposta imunológica, torna-se relevante a avaliação da hidrólise desses nucleotídeos por ectoenzimas presentes ancoradas na membrana de linfócitos. **Objetivo:** Avaliar a atividade da Ecto-NTPDase em linfócitos de pacientes com anemia falciforme. **Material e métodos:** As amostras de linfócitos usadas foram isoladas de sangue periférico e a atividade enzimática da Ecto-NTPDase dos linfócitos foi feita em triplicata e determinada por ensaio colorimétrico, por meio da quantificação do fosfato inorgânico liberado na reação de hidrólise dos nucleotídeos, segundo Leal et al. (2005). **Resultados:** Os resultados da atividade da Ecto-NTPDase em pacientes saudáveis para ATP foi de 39,27 Pi/min/mg proteína (SEM:2,40) e para ADP 38,33 Pi/min/mg proteína (SEM:2,95). Já a atividade da Ecto-NTPDase em pacientes com anemia falciforme para ATP foi de 59,81 Pi/min/mg proteína (SEM:6,321) e para ADP 64,79 Pi/min/mg proteína (SEM:7,04). A análise estatística demonstrou que a atividade da Ecto-NTPDase em linfócitos de pacientes com anemia falciforme é significativamente maior do que a de pacientes saudáveis. **Conclusão:** Podemos relacionar o processo inflamatório presente em pacientes com anemia falciforme com um aumento da hidrólise de ATP e ADP por ectoenzimas presentes em linfócitos, demonstrar uma tentativa do organismo de controlar os níveis desses nucleotídeos no meio extracelular, e assim, evitar funções clássicas, como a ativação de linfócitos e a proliferação celular.

Referências:

- Bours M, Swennen E, Di Virgilio F, Cronstein BN, Dagnelie PC. Adenosine 5'-triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation. *Pharmacol Ther.* 2006;112(2):358-404.
- Di Virgilio F, Chiozzi P, Ferrari D, Falzoni S, Sanz JM, Morelli A, et al. Nucleotide receptors: an emerging family of regulatory molecules in blood cells. *Blood.* 2001;97(3):587-600.
- Leal DB, Streher CA, Neu TN, Bittencourt FP, Leal CA, da Silva JE, et al. Characterization of NTPDase (NTPDase1; ecto-apyrase; ecto-diphosphohydrolase; CD39; E.C. 3.6.1.5) activity in humans lymphocytes. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1721(1-3):9-11.
- Silla, LM. Doença falciforme: um grave e desconhecido problema de saúde pública no Brasil. *J Pediatr (Rio J).* 1999;75(3):145-6.
- Zimmermann, H. Ectonucleotidases: Some recent developments and a note on nomenclature. *Drug Dev Res.* 2001;52:44-56.

120. CO-INHERITANCE OF HB ALESHA [67(E11)VAL>MET, GTG>ATG] CAUSED BY A DE NOVO MUTATION AND THE ALFA212 PATCHWORK GENE IN A BRAZILIAN CHILD WITH A SEVERE HEMOLYTIC ANEMIA

Pedroso GA^a, Kimura EM^a, Oliveira DM^a, Lanaro C^b, Leonardo DP^b, Ferruzzi JLH^c, Costa FB^b, Saad STO^b, Sonati MF^a

^a Laboratório de Hemoglobinopatias, Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^c Hospital Universitário, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS, Brazil

Background: Hemoglobin (Hb) Alesha is a rare, unstable β -chain variant in which valine (Val) is replaced by methionine (Met) at position 67. The larger Met residue in the heme pocket causes the loss of nonpolar bonds between the β -chain and the heme group, resulting in high instability and severe hemolytic anemia. The α 212 allele in turn consists of the α 2 gene sequence, except in two sites of the second intron where the normal sequence is replaced by specific α 1 gene sequences. While in one of the sites there is a T > G nucleotide substitution at position 55, in the other there is a substitution of a single base (G) at position 119 by an octanucleotide (position 119-126, 5-CTGGGCC-3). **Patient and methods:** The patient was an 11-month-old white female of mixed ethnic origin (native Brazilian and European) from Midwestern Brazil with severe hemolytic anemia, blood transfusion dependence, and bone deformation since the age of 6 months. Both the parents were normal. Hb was analyzed by electrophoresis at alkaline and acidic pHs, isoelectric focusing (IEF), cation-exchange high-performance liquid chromatography (HPLC), and reverse phase (RP)-HPLC. For molecular analyses, the α - and β -globin genes were sequenced directly after cloning of the α 2 gene. **Results:** In alkaline pH and in IEF, Hb Alesha migrated to the position of Fetal Hb; in the HPLC it co-eluted with HbA and in RP-HPLC, an anomalous β -chain co-eluted with the δ and β chains. Sequencing of the β gene revealed the mutation corresponding to Hb Alesha, in heterozygosis, confirmed by the complementary DNA strand. Familial analysis (mother, father, sister, and maternal grandmother) failed to reveal the mutation, which was therefore considered a *de novo* mutation in the child. Sequencing of the α 2 gene identified the α 212 patchwork, also in heterozygosis, and showed that the father was a carrier of this patchwork. **Conclusion:** This is the first case in Brazil in which either Hb Alesha or the α 212 patchwork has been described. It highlights the importance of the β 67Val for Hb stability and the investigation of Hb in multi-ethnic origin populations. **Funding:** FAPESP and CNPq, Brazil.

121. EFEITO DA VITAMINA C EM ERITRÓCITOS NORMAIS SUBMETIDOS A ESTRESSE OXIDATIVO

Ballem AC, Hermann PB, Spezia J, Henneberg R, Leonart MSS, Nascimento AJD

Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Introdução: Os eritrócitos são células altamente especializadas, continuamente expostas ao estresse oxidativo. No eritrócito humano maduro, o estresse oxidativo leva à formação de meta-hemoglobina (meta-Hb), que, por sua vez, aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e ocasiona mudanças no citoesqueleto da membrana eritrocitária e hemólise. A compreensão dos mecanismos que levam ao estresse oxidativo tem esclarecido muitos dos processos que promovem lesão e morte celular. **Objetivo:** Avaliar a ação de vitamina C (vitC) no metabolismo oxidativo de eritrócitos normais expostos a agentes oxidantes, *in vitro*. **Material e métodos:** Foram obtidas amostras de sangue de 24 indivíduos considerados normais, selecionados entre estudantes e servidores da Universidade Federal do Paraná (Comissão de Ética e Pesquisa 172.528). Os eritrócitos foram incubados com vitC e, posteriormente, com os agentes oxidantes *tert*-butilhidroperóxido (t-BHP) ou 2,2'-azobis (2-metil-propionamida) dihidrocloro (AAPH). Foram feitas determinações de glutatona reduzida (GSH), meta-Hb, ERO, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), porcentagens de hemólise e atividades de glicose 6-fosfato desidrogenase (G6-PD). **Resultados:** A presença de vitC não protegeu contra a diminuição de 96% nos níveis de GSH em amostras incubadas com t-BHP 1 mmol/L ($0,3 \pm 0,1$ μ moles/gHb). Observou-se aumento de cerca de três vezes na formação de meta-Hb em amostras incubadas com t-BHP 2 mmol/L ($9,1 \pm 2,5\%$), também sem influência de incubação com vitC. A formação de ERO aumentou aproximadamente 30 vezes após incubação com t-BHP 175 μ moles/L (42.716 ± 13.608 UF/gHb), observando-se proteção quando se incubou com vitC 50 μ moles/L (13.122 ± 5.617 UF/g Hb). Houve aumento na formação de TBARS de aproximadamente três vezes em amostras incubadas com t-BHP 2 mmol/L ($167,0 \pm 52,7$ nmoles/gHb) e de apenas 1,2 vez em amostras tratadas com vitC 10 mmol/L ($69,1 \pm 18,3$ nmoles/g Hb). A porcentagem de hemólise aumentou de 7% para 86,6% em eritrócitos

incubados com AAPH 200 mmoles/L e para 8,8% quando incubados com vitC 10 mmoles/L. Houve diminuição da atividade de G6-PD de 63% nas amostras tratadas com t-BHP 5 mmoles/L ($2,6 \pm 0,8$ UI/g Hb) e de 58% nas amostras tratadas com vit C 10 mmoles/L ($2,9 \pm 0,6$ UI/g Hb). **Conclusão:** Observou-se prevenção parcial, pela vitC, de danos oxidativos induzidos *in vitro*, principalmente na formação de TBARS e ERO e proteção total na hemólise. Isso sugere que o uso de vitC pode correlacionar com menor estresse oxidativo e melhoria na defesa antioxidante.

122. ADVANCES IN THE LABORATORY DIAGNOSIS OF PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA: CREATING A NORMAL REFERENCE STANDARD

Bigolin A, Mazzucco S, Rudolf-Oliveira RCM, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare acquired clonal stem cell disorder, which is due to a somatic mutation of the phosphatidylinositol glycan class A (PIG-A) gene. In a normal subject, this gene encodes an essential protein subunit for the activity of GlcNAc: PI α 1-6 GlcNAc transferase, an enzyme required for the biosynthesis of glycosyl-phosphatidyl-inositol molecule (GPI), which is responsible for anchoring and fixing of certain antigens on the surface of the outer cell membrane of erythrocytes, leukocytes, and platelets. A mutation in the PIG-A gene in patients with PNH results in deficiency of GPI. Thus, important antigens regulators of the complement system (CS) as CD55 and CD59 are not expressed on the cell surface of these individuals, making them susceptible to the lytic effect released by CS. In this context, there is destruction of erythrocytes and consequently chronic intravascular hemolysis and other clinical manifestations, such as hemoglobinuria, anemia, asthenia, abdominal pain, esophageal spasm, dysphagia, male impotence, and possibly thrombosis due to tissue depletion of nitric oxide. Using these clinical findings and with the aid of flow cytometry, by analysis of hematopoietic cells, it is possible to perform the laboratorial diagnosis of PNH. Flow cytometry has high sensitivity and specificity, and therefore it is considered the gold standard for the diagnosis of PNH. However, analysis of the gates has been subjective due to lack of standardization from cell populations of healthy individuals, and has not considered the variability between individuals in expression of cellular antigens. In this study, with samples from 20 healthy individuals, the performance of various immunophenotypic markers was investigated, including CD59, CD55, CD45, CD3, CD19, CD15, and fluorescent aerolysin (FLAER) combined with CD14 in a PNH panel using eight-color flow cytometry. Thus, it was possible to create a database, stored as a reference, which can be used as criteria of comparison in the analysis of new samples suspected of PNH clones in patients, making this more practical, standardized, and reliable.

123. REPERCUSSÕES DA ASSOCIAÇÃO DE HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA E TROMBOSE DE VEIA CAVA – RELATO DE CASO

Berg AVSVD^a, Ramalho LMBF^b

^a Universidade do Estado do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

^b Fundação Hospital de Clínicas Gaspar Vianna, Belém, PA, Brasil

Introdução: Hemoglobinúria paroxística noturna é uma doença clonal adquirida da célula tronco hematopoética caracterizada por hemólise intravascular, frequentemente associada a exacerbações noturnas recorrentes, pancitopenia e trombose venosa com predileção por trombose de veias hepáticas e intra-abdominais, sua principal causa de morte.

Objetivo: Relatar um caso de tal associação. **Relato de caso:** R.B., sexo feminino, 31 anos, paraense, iniciou quadro de anemia, equimoses e metrorragia abruptamente havia 15 anos, com diagnóstico de anemia aplástica em outro estado, onde fez esquema com prednisona + ácido fólico + ciclosporina por seis meses pelo serviço de Hematologia de Manaus. Continuou com prednisona + ácido fólico por três anos com alta do serviço. Passou dois anos sem medicação, após retorno ao serviço com aumento do volume abdominal, ascite e em uso de corticoide, com hipótese diagnóstica de síndrome de Budd Chiari + hemoglobinúria paroxística noturna. Encaminhada pela cirurgia para transplante hepático por causa de trombose de veia cava, cirrose e nódulos hepáticos be-

nignos, em uso de heparina de baixo peso molecular profilaticamente. Após transplante, ficou em uso de Tacrolimus e Mitostate, além da Enoxaparina diariamente. Três anos após, foi encaminhada à Hematologia no Estado do Pará, que confirmou HPN por estudo específico, ainda com LDH e bilirrubinas aumentadas. Solicitado tratamento com Eculizumab, ficou sob controle hematológico e sem uso de Enoxaparina. **Conclusão:** Ter um diagnóstico correto e precoce torna-se imprescindível em casos como esse, no qual poderia ser prevenida a ocorrência da trombose, patologia frequente e grave dentro do espectro sintomático da hemoglobinúria paroxística noturna, com o início do tratamento mais adequado nesses casos, que, para ela, foi o uso de tal anticorpo monoclonal, que ainda se encontra em dificuldade de dispensação, tanto por planos de saúde quanto pelo SUS. Nesse contexto, a HPN deve ser aventada entre as hipóteses diagnósticas quando encontramos anemia aplástica e coagulopatias, para que exista o tratamento adequado e se diminua a morbimortalidade de sua associação.

124. INCIDÊNCIA DE DISTÚRBIOS OSTEOMUSCULARES, DOR E LIMITAÇÃO DAS ATIVIDADES DE VIDA DIÁRIA EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA FALCIFORME (DF) DO HEMOCENTRO DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS (UNICAMP)

Zanoni CT^a, Galvão F^b, Barbieri LB^b, Ricciardi JBS^a, Matta MAP^a, Saad STO^a

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

^b Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio, Itu, SP, Brasil

Introdução: A doença falciforme é uma doença genética, que resulta em falção das hemácias e desencadeia fenômenos de vaso-oclusão, episódios de dor e lesão de órgãos. O comprometimento ósseo é a manifestação clínica mais comum e pode causar deficiências crônicas e progressivas, dor, limitação do nível de atividade e função. **Objetivo:** Avaliar possíveis limitações nas atividades de vida diária relacionadas aos sintomas osteomusculares nos últimos 12 meses e investigar a incidência de distúrbios osteomusculares e dor, no momento da coleta dos dados, em pacientes portadores de doença falciforme (DF) do ambulatório de hemoglobinopatias do Hemocentro da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). **Material e métodos:** Cento e sete pacientes portadores de DF, 64 do sexo feminino (59,8%) e 43 do masculino (40,2%) responderam a questões do Questionário Nórdico de Sintomas Osteomusculares (QNSO) com a ocorrência de sintomas (dor, desconforto ou formigamento) nas várias regiões anatómicas (pescoço, ombros, região superior e inferior das costas, punho e mãos, quadril e coxa, joelhos, tornozelo e pés), intensidade de sintomas nos últimos 12 meses e impedimento para as atividades de vida diária (AVD) também nos últimos 12 meses. Além disso, responderam o QNSO sobre a intensidade de dor no momento da coleta dos dados, nas várias regiões anatómicas especificadas acima, com variação de 0 (nenhuma dor) a 10 (pior dor possível). **Resultados:** Em valores médios, mostraram uma maior incidência de limitações nas atividades de vida diária em função da dor osteomuscular nas seguintes regiões anatómicas, respectivamente: quadril e coxa: 4,43 ($\pm 4,15$); região inferior das costas: 4,33 ($\pm 3,83$); tornozelo e pé: 3,97 ($\pm 3,84$); joelhos: 3,52 ($\pm 4,01$); ombros: 3,41 ($\pm 3,34$); região superior das costas: 3,34 ($\pm 3,91$); pescoço: 2,71 ($\pm 3,24$); punho e mãos: 2,44 ($\pm 3,61$); e cotovelos: 1,88 ($\pm 2,68$). Os resultados também mostraram que o acometimento de determinadas regiões anatómicas incidia em maior limitação nas AVD. Assim, dos pacientes que referiram sintomas de dor nos tornozelos e pés, 100% apresentavam limitações de AVD. Da mesma forma, respectivamente, as porcentagens de limitação das AVD observadas para cada região anatómica acometida foram as seguintes: 95,6% para dor na região inferior das costas, 95% para joelhos, 94,7% para região superior das costas, 92,5% para quadril e coxa, 92% para punhos e mãos, 86,2% para ombros, 81,2% para cotovelos e 76,2% para pescoço. E, por último, a maior incidência de distúrbios osteomusculares apresentou-se nas seguintes regiões anatómicas: joelhos (59,8%), região inferior das costas (56,1%), superior das costas (54,2%), quadril/coxa (53,3%), tornozelo/pé (47,7%), ombro (42,1%), punho/mão (38,3%), pescoço (29,9%) e cotovelo (21,5%). **Conclusão:** A incidência de distúrbios osteomusculares é maior em membros inferiores e coluna, causam mais dor e, portanto, são mais limitantes para as AVD quando comparados com os membros superiores em portadores de DF, o que demanda maior atenção nessas regiões por parte dos profissionais envolvidos no tratamento desses pacientes.

125. ANEMIA MACROCÍTICA MIMETIZANDO APLASIA ERITROIDE PURA – RELATO DE CASO

Teixeira DFS, Bottura BF, Silva JBCB

Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Aplasia eritroide pura (AEP) é doença rara que causa anemia grave, relacionada à ausência do precursor eritroide na medula óssea. A contagem de células de outras linhagens é normal. Pode ser classificada como aguda ou crônica, congênita ou adquirida. A forma aguda é secundária a vírus e induz deficiência de células progenitoras eritroides, com diminuição de eritrócitos e ausência de reticulócitos normais. Infecções respiratórias, gastroenterite, mononucleose infecciosa, hepatite viral e infecção pelo HIV podem desencadear essa doença. A forma crônica pode ser de origem linfoproliferativa, de distúrbios neoplásicos ou doenças autoimunes, como o lúpus eritematoso sistêmico. **Objetivo:** Relatar caso de anemia macrocítica grave, cuja hipótese final foi AEP. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 39 anos, trazido a hospital universitário com queixa de taquipneia, prostração e dor no membro inferior direito (MID) havia dois dias; como história pregressa informa anemia havia dois anos, contra a qual fazia tratamento com ácido fólico e vitamina B12 diversas vezes no posto de saúde, e hipotireoidismo havia seis meses. Ao exame físico: hipotensão, taquicárdico, descorado, sonolento e com edema assimétrico de membros inferiores. Exames laboratoriais: Hb: 2,2 g/dL; Ht: 6,7%; VCM: 124,1 fl; leucócitos e plaquetas normais. Foi internado, evoluiu com insuficiência respiratória e necessitou de intubação orotraqueal, com extubação em três dias após transfusão de hemácias. Na hipótese de acometimento infeccioso foram coletadas sorologias para HIV, hepatites, Parvovírus B19 e CMV, todas negativas. Na tentativa de encontrar neoplasia sólida, foram feitos exames de imagem, todos sem alterações significativas. Também foi diagnosticado com trombose venosa profunda do MID. Após 16 dias de internação, recebeu alta e foi encaminhado à Hematologia para prosseguir investigação de anemia macrocítica com hipótese de origem viral, neoplásica ou por hipotireoidismo. Foi feita biópsia de medula óssea, que evidenciou áreas de ossificação irregular e presença de elementos granulocíticos e eritroblásticos com retardo de maturação. Permaneceu dependente transfusional, com melhoria apenas após introdução de eritropoietina (EPO). **Discussão:** AEP é condição em que precursores eritroides na medula óssea estão quase ausentes, enquanto demais precursores estão em níveis normais. Dessa forma, precursores eritroides são os primeiros alvos da doença. No caso elucidado, observa-se que a porcentagem do hematócrito está baixa, além da concentração de hemoglobina, o que demonstra queda acentuada dos glóbulos vermelhos. Além disso, havia níveis de leucócitos e plaquetas normais; ambos os dados condizentes com AEP. Apesar das sorologias para HIV, hepatites, Parvovírus B19 e CMV terem resultado negativas, o quadro do paciente se assemelha, em alguns pontos, com uma infecção prévia culminada em AEP. No caso de pacientes HIV positivos, anemia é uma complicação clínica muito frequente, porém assintomática. Outro ponto é o fato de a síntese de EPO estar reduzida em pacientes HIV positivos, observado, também, no caso. **Conclusão:** No relato em questão, até o momento, não se obteve uma segunda sorologia para as infecções e ficou em aberto alguma patologia prévia.

126. INVESTIGAÇÃO DE MUTAÇÕES ALFA-TALASSÊMICAS EM AMOSTRAS DE SANGUE DE RECÉM-NASCIDOS (RN) COM HB BART'S

Caetano BB^a, Mota NO^a, Kimura EM^a, Pedrosa GA^a, Costa FF^b, Sonati MF^a

^a Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: As talassemias são as hemoglobinopatias hereditárias mais comuns em todo o mundo, caracterizadas pela síntese reduzida/ausente das cadeias globínicas. A talassemia α resulta da deficiência de síntese de globinas α . As deleções parciais/totais dos genes localizados em 16p13.3, que as codificam (α_2 e α_1), são suas causas mais comuns. Em hemácias de RN com talassemia α , o excesso de cadeias γ forma um tetrâmero, γ_4 , conhecido como hemoglobina (Hb) Bart's. **Material e métodos:** Amostras de sangue de cordão umbilical provenientes do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM)/UNICAMP foram analisadas por eletroforese

de Hb, em pHs alcalino e neutro, e as frações de Hb quantificadas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Para as amostras que apresentaram Hb Bart's, foram feitas análises moleculares (gap-PCR e PCR seguida de análise de restrição), para investigação das talassemias α delecionais e não delecionais mais comuns nas populações. **Resultados:** Foram analisadas 169 amostras, das quais 13 (7,69%) apresentaram Hb Bart's. Dessas, oito (61%) apresentaram a deleção $-\alpha^{3,7}$, uma apresentou a deleção $-\alpha^{4,2}$ (todas em heterozigose) e em quatro amostras (31%) não foram detectadas mutações. **Conclusão:** Essas últimas são candidatas à análise por MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) para investigação de formas raras ou novas de talassemia α . Caso não sejam detectadas deleções, elas serão então submetidas ao sequenciamento de DNA após amplificação seletiva dos genes alfa. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

127. CARACTERIZAÇÃO E SEGUIMENTO DE PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ANEMIA DE FANCONI

Araujo AA, Luporini SM, Silva HRM, Pizza M, Borsato ML, Bruniera P

Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Anemia de Fanconi (AF) é uma doença genética rara caracterizada por anormalidades congênicas, falência medular progressiva e susceptibilidade a malignidades. A evolução desses casos segue síndrome de falência medular ainda em idade pediátrica e o único tratamento curativo é o transplante de medula óssea (TMO) halogênico. É de suma importância a identificação precoce desses pacientes, antes que se apresentem com grave pancitopenia. **Objetivo:** Analisar a apresentação clínica, hematológica, os métodos diagnósticos, a evolução e o tratamento de um grupo de crianças AF, com a finalidade de contribuir para a conscientização dessa rara doença genética. **Material e métodos:** Análise retrospectiva de 10 pacientes com AF em seguimento no Serviço de Onco-Hematologia Pediátrica da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, de 2001 a junho de 2014. Os casos foram diagnosticados com base no histórico familiar, nos achados clínicos, nas anormalidades hematológicas e nos testes de quebras cromossômicas induzidas por agentes clastogênicos – diepoxibutano (DEB) ou mitomicina-C (MMC) a partir de amostra de sangue periférico. Foi usado método de Kaplan Meier para determinar as curvas de sobrevida global e pós-TMO. **Resultados:** De 10 pacientes com diagnóstico de AF, seis eram meninas. A mediana de idade à primeira avaliação foi de 6,45 anos. Baixo peso ao nascimento foi observado em 50% dos casos e todos apresentavam anomalias congênicas associadas. As mais comuns foram alterações de pigmentação da pele (100%), microftalmia (80%) e baixa estatura (50%). Nove pacientes apresentavam-se com pancitopenia ao diagnóstico (quatro em pancitopenia severa) associada à macrocitose, com média de VCM de $101,6 \pm 8,8$. As taxas de hemoglobina fetal (HbF) encontravam-se elevadas em nove pacientes $8,07 \pm 4,07$ (incluindo um caso com hemograma normal), e somente um paciente pancitopênico apresentava HbF normal. Os exames citomorfológicos da medula óssea revelaram splasia de medula óssea em oito pacientes e um caso evoluiu com síndrome mielodisplásica. Todos os pacientes revelaram hipersensibilidade ao DEB ou MMC e mostraram aumento de quebra cromossômica/célula de $2,52 \pm 2,26$ para DEB ($p < 0,01$) e para MMC $10,92$ ($p < 0,01$), o que confirma o diagnóstico de AF. Pacientes em pancitopenia moderada foram mantidos em conduta expectante e, com a evolução para pancitopenia severa, ou com essa condição já ao diagnóstico, iniciaram tratamento de suporte e prednisona, enquanto aguardavam doador idêntico para TMO. Sete pacientes fizeram TCTH com doadores HLA-idênticos relacionados (dois casos) e não relacionados (cinco casos) junto ao Banco Nacional de Medula Óssea, com mediana de 2,35 anos de tempo de espera. Aqueles submetidos ao TMO alogênico relacionado encontram-se em remissão completa contínua há quatro e sete anos. Dos cinco pacientes submetidos ao TMO alogênico não relacionado, dois evoluíram a óbito (doença veno-oclusiva e sepsis fúngica); os três restantes seguem em remissão completa contínua há dois, sete e 11 anos. **Conclusão:** AF é uma doença sistêmica e, independentemente do tratamento recebido, é necessário o acompanhamento ao longo da vida em decorrência de anormalidades congênicas, complicações endocrinológicas, neoplasias malignas, acúmulo de ferro por transfusões de hemocomponentes e complicações inerentes ao próprio TCTH.

128. HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA EM USO DE Eculizumab

Medeiros JFF, Araújo ACA, Soares AR, Souza LS, Vieira MGM, Freire PNC, Jazbik JE, Rosa FJA, Alvim FNT

Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A hemoglobinúria paroxística noturna é um transtorno hematopoiético clonal adquirido e raro com três características clínicas básicas: hemólise intravascular, tendência à trombose e insuficiência da medula óssea. O método diagnóstico mais acurado é a imunofenotipagem com o uso de anticorpos monoclonais CD55 e CD59 para detecção da anormalidade. O tratamento é de acordo com os sintomas clínicos presentes. Em casos selecionados, é considerado o uso de eculizumab, um anticorpo monoclonal contra C5 que interrompe a hemólise intravascular e suas consequências clínicas. **Relato de caso:** W.J.S., 31 anos, iniciou em fevereiro de 2012 quadro de astenia associado a palidez cutâneo-mucosa, dispneia aos esforços, disfunção erétil e episódios de “urina escura”. Iniciada investigação diagnóstica com exames laboratoriais e ecocardiograma que evidenciaram pancitopenia (hematócrito 20%, leucócitos de 2.900, plaquetas 145.000), LDH alto e PSAP de 38 mmHg, o que sugeria hipertensão pulmonar. Biópsia de medula óssea demonstrou hiperplasia eritroide relativa e imunofenotipagem de sangue periférico, compatível com hemoglobinúria paroxística noturna (redução de expressão de CD55 em 57% e de CD59 em 31% das hemácias). Iniciada prednisona 1 mg/kg/d, ácido fólico e sulfato ferroso, enquanto aguardava liberação de eculizumab. Inscrito no Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea (Rereme). Seguiu acompanhamento ambulatorial com episódios frequentes de hemoglobinúria e astenia intensa. Feito desmame de corticoide. Em maio de 2013, iniciado eculizumab na dose de 600 mg endovenosos uma vez por semana por quatro semanas, com posterior dose de 900 mg endovenosos a cada 14 dias. Evoluiu com melhoria clínica (sem astenia, sem disfunção erétil, sem hemoglobinúria), laboratorial (Hto 36%, leucócitos 3.900, plaquetas 240.000, LDH 311) e ecocardiograma com melhoria da hipertensão pulmonar (PSAP 21 mmHg). **Conclusão:** Segue em acompanhamento ambulatorial com dose de eculizumab duas vezes por mês, com melhoria dos sintomas e da qualidade de vida.

129. APLASIA ERITROIDE PURA ADQUIRIDA EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRANSPLANTE RENAL

Maioli MCP, Pecego H, Jazbik JE, Tavares DO, Freire PNC, Santos MJFD, Alvim FNT, Vieira MGM, Rosa FJA, Soares AR

Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A aplasia pura eritroide adquirida (Apea) é uma síndrome clínica rara, caracterizada por anemia com reticulocitopenia e hipoplasia eritrocitária e preservação das demais linhagens da medula óssea (MO). Sua etiologia se relaciona a várias doenças, em que se destacam: as infecções virais como a hepatite e o parvovírus B19 (HPV B19), o uso de alguns medicamentos e doenças autoimunes, neoplásicas, imunodeficiências e após transplante de órgãos. O HPV B19 tem ocorrência mundial e é o causador do eritema infeccioso na criança. A Apea causada por esse vírus decorre da ação citotóxica direta sobre os precursores eritroides e ocasiona uma parada maturativa nessa linhagem. Os poucos proeritroblastos remanescentes são frequentemente gigantes e exibem grandes inclusões eosinofílicas virais, núcleos divididos, pseudópodos e vacúolos. **Objetivo:** Relatar os casos de dois pacientes, internados no Serviço de Nefrologia e acompanhados pelo de Hematologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE)/UERJ, que apresentaram anemia normocrômica normocítica persistente após receberem transplante renal (Tx renal) por causa de IRC. **Relatos de caso:** 1: Homem de 42 anos recebeu Tx renal de doador falecido em 09/2012 e veio a desenvolver anemia com hemoglobina de 4,8 g/dL, hematócrito de 15,4%, reticulócitos 0,9%, leucometria global 5.720/mm³ e plaquetometria igual a 162.000/mm³. Necessitou de várias hemotransfusões e foi medicado com rEPO sem melhoria. Fez exame da medula óssea (MO). A sorologia não foi reagente para HPV B19 em 01/2013, porém com positividade (IgG e IgM) em 07/2013. Após o uso de imunoglobulina, obteve melhoria com normalização dos exames. 2: Adolescente do sexo masculino de 16 anos, recebeu o Tx renal de doador vivo (mãe) em 02/2014, veio a apresentar febre e

anemia grave dois meses após e necessitou de várias hemotransfusões. Os exames mostravam hemoglobina de 4,6 g/dL, hematócrito de 13,7%, reticulócitos de 0,3%, contagem global de leucócitos de 6.100/mm³ e de plaquetas de 297.000/mm³. A sorologia para HPV B19 foi inconclusiva para IgM e reativa para IgG. **Discussão:** Os dois pacientes estavam em uso de micofenolato de mofetila, tacrolimo e prednisona. Em ambos os casos, o exame da MO mostrou, além de acentuada hipoplasia eritrocítica, a presença das anormalidades morfológicas já descritas, além de várias células em processo de destruição, com um halo centra e presença de inclusão nuclear (celular em lanterna). A infecção pelo HPV B19 é responsável por 86% das crianças com doença falciforme que apresentam crise aplástica e é descrita na literatura como causa de aplasia eritroide em pacientes infectados pelo HIV com baixa contagem de CD4 e naqueles submetidos a transplante de órgãos, seja de MO, coração, fígado ou rim. **Conclusão:** A inexistência de exames adequados não nos permitiu comprovar com certeza a infecção viral. Entretanto, o quadro clínico, os achados hematológicos e a resposta ao tratamento sugerem fortemente essa etiologia e alertam para possibilidade da infecção pelo HPV B19 nesses pacientes.

130. ANÁLISE LABORATORIAL DA HEMOGLOBINA PORTO ALEGRE

Zillig SAM, Lavelle NC, Frana NDG, Muramoto FJ, Pintao MC

Ser de Hematologia, Imuno-Hematologia e Eletroforese de Hemoglobinas, Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A hemoglobina Porto Alegre caracteriza-se por uma mutação na cadeia da beta-globina que leva à substituição de um resíduo de serina por cisteína [beta 9 (A6) Ser>Cys] que induz a polimerização da hemoglobina. Essa variante de hemoglobina foi encontrada pela primeira vez em uma criança de uma família de origem portuguesa que morava em Porto Alegre (RS) e foi detectada posteriormente em outras populações do Brasil e também da Argentina e de Cuba. Os portadores da hemoglobina Porto Alegre são assintomáticos clínica e hematologicamente. A identificação dessa variante, entretanto, exige experiência do analista e associação de métodos de investigação. Em nosso laboratório, o primeiro diagnóstico de hemoglobina Porto Alegre com confirmação molecular foi feito em 2010. Desde então se estabeleceu o padrão de identificação dessa hemoglobina por eletroforese em capilar, HPLC e gel de agarose. **Objetivo:** Descrever as características laboratoriais da hemoglobina Porto Alegre, sua frequência nesse laboratório e associação com outras hemoglobinopatias e as características hematológicas dos pacientes. **Material e métodos:** Foram levantados todos os casos de hemoglobina Porto Alegre de 2011-2014 identificados em nosso laboratório. Foram avaliados os parâmetros hematológicos e a dosagem de ferro e ferritina. A triagem de hemoglobinas anômalas foi feita por eletroforese em capilar (Capillarys®2 Flex Piercing, Sebia) e confirmação por cromatografia líquida de alta performance (HPLC, Variant® II, BioRad). **Resultados:** Em quatro anos, foram feitos 48.607 testes de eletroforese de hemoglobina que resultaram na identificação de 52 indivíduos portadores de hemoglobina Porto Alegre, 27 do sexo feminino. Não foram observadas alterações nos parâmetros de avaliação da série vermelha, ferro ou ferritina sérica (média em relação à idade e sexo, dados não apresentados). A eletroforese de hemoglobina em capilar revelou presença de uma fração anômala com migração na posição de hemoglobina fetal (Z7). Na eletroforese em gel em pH ácido a hemoglobina migra na posição de hemoglobina S. Os perfis em HPLC e gel pH ácido foram normais e não houve separação da hemoglobina variante (eluição e migração na mesma janela de hemoglobina A). Do total de casos, dois apresentaram associação com hemoglobina S e dois com hemoglobina D, esses últimos da mesma família. Não foram observados pacientes homocigotos. **Conclusão:** Apesar de ser geralmente silenciosa do ponto de vista clínico, a hemoglobina Porto Alegre pode representar desafio diagnóstico. Sua detecção depende do uso de técnicas específicas e do reconhecimento do seu padrão de migração. Adicionalmente, sua associação com outras hemoglobinas anômalas pode tornar sua identificação mais difícil e, em alguns casos, gerar impacto clínico. Em resumo, esta avaliação demonstra características típicas que ajudam a direcionar o diagnóstico dessa importante hemoglobina anômala.

131. MORTALIDADE POR ANEMIAS: ESTUDO COMPARATIVO NOS MUNICÍPIOS COM MAIORES IDHMS DO MARANHÃO, ENTRE 2008 E 2012

Mendes MVG^a, Ericeira MAL^a, Alencar LCR^a, Marins JB^a, Dumont SVR^a, Abreu KC^a, Santos NS^a, Santos TS^b, Nicolau DI^a

^a Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, MA, Brasil

^b Universidade Ceuma, São Luís, MA, Brasil

Introdução: Anemia é a diminuição da massa de hemoglobina dos eritrócitos, com consequente diminuição da capacidade do transporte de oxigênio pelo sangue. Trata-se de um dos sinais clínicos mais frequentes e, na maioria das vezes, sua causa primária não é doença hematológica, e sim consequência de doenças em vários outros órgãos. Apesar dos avanços alcançados nas últimas décadas no tratamento das anemias, essas ainda configuram números importantes relacionados à mortalidade nos municípios maranhenses, principalmente nos casos de anemias aplásticas e anemias congênitas, como a anemia falciforme. **Objetivos:** Determinar e comparar as taxas de mortalidade por anemias nos cinco municípios com os maiores IDHMs do Estado do Maranhão, entre 2008 e 2012, e caracterizar os óbitos quanto a gênero e faixa etária. **Material e métodos:** Estudo epidemiológico longitudinal retrospectivo, com abordagem quantitativa, descritiva e observacional, de 2008 a 2012. As unidades de análise foram os cinco municípios do Maranhão que apresentaram os maiores Índices de Desenvolvimento Humano Municipal (IDHMs, Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento [Pnud] 2010) e os óbitos por anemias (tabulação do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde [Datusus]) confirmados e notificados ao Sistema de Informação de Mortalidade (SIM). Foi calculada a taxa de mortalidade com base no total de óbitos por anemias ocorridos durante os cinco anos analisados no estudo e a média aritmética das populações estimadas (IBGE) dos municípios em cada ano. Os dados foram coletados em 14 de julho de 2014. **Resultados:** Os cinco municípios com maiores IDHMs do Estado do Maranhão são São Luís (0,768), Imperatriz (0,731), Paço do Lumiar (0,724), São José de Ribamar (0,708) e Balsas (0,687). Observou-se que a maior taxa de mortalidade durante 2008 a 2012 ocorreu em Balsas (20,189 óbitos para cada 100.000 habitantes), seguido por Imperatriz (11,891/100.000), Paço do Lumiar (9,459/100.000), São Luís (8,587/100.000) e São José de Ribamar (3,889/100.000). O SIM classifica os óbitos por anemia em três grupos: “anemias nutricionais”, “anemias hemolíticas”, e “anemias aplásticas e outras anemias”. Esse último grupo foi o que representou a grande maioria dos óbitos (80,5%). As anemias hemolíticas representaram 15,5% e as nutricionais, apenas 4%. Entre os óbitos, houve uma leve predominância de casos no sexo feminino (55,03%). O grupo etário mais atingido foi o de maiores de 60 anos (45,27%), seguido dos grupos de 20 a 59 anos (41,89%) e de 0 a 19 anos (12,84%). **Discussão:** Esse resultado se mostra condizente com a tendência verificada na literatura de alta prevalência de anemias em idosos. Além disso, a existência de uma taxa de mortalidade por anemias relativamente alta nos municípios maranhenses precisa ser analisada de forma mais profunda, tendo em vista que boa parte dos casos é, geralmente, de fácil tratamento. **Conclusão:** Por meio deste trabalho, verificou-se que, entre os cinco municípios maranhenses de maior IDHMs, o que apresentou maior taxa de mortalidade por anemias foi Balsas e que o perfil dos óbitos foi composto de uma maioria do sexo feminino, pertencente à faixa dos maiores de 60 anos. Conhecer esse perfil e os dados referentes à mortalidade por anemias torna possível a definição e o aprimoramento de projetos e atividades que visem a melhor prevenção, diagnóstico e tratamento dessas tanto no contexto municipal quanto no estadual.

132. TELOMERE LENGTH MEASUREMENT BY FLOW-FISH AS A DIAGNOSTIC TEST FOR TELOMEROPATHIES

Gutierrez-Rodrigues F^{a,b}, Hortense AB^a, Santana-Lemos BA^{a,b}, Scheucher PS^{a,b}, Martinez JAB^a, Calado RT^{a,b}

^a Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Centro de Terapia Celular, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Telomeropathies are a spectrum of diseases that may clinically manifest as bone marrow failure (BMF), dyskeratosis congenita (DC), hepatic cirrhosis, and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). Telomere length measurement has important implications for diagnosis and therapy in telomere

diseases. Methods capable of accurately measuring telomere length contribute to the improvement of diagnostic services. The goal of this study was to assess the differential diagnosis contribution of flow-FISH in patients with BMF syndromes and IPF. For this purpose, telomere length was determined in peripheral blood leukocytes from a cohort of 180 healthy Brazilian subjects ranging in age from zero to 92 years. The 1st, 10th, 50th, 90th, and 99th percentiles of healthy controls were adjusted to the normal age-dependent telomere length distribution applying quantile regression. Telomere length of patients with BMF (n = 35), DC (n = 2), and IPF (n = 17) was also determined. Telomere lengths below the 1st and 10th percentile were considered very short and short, respectively. All patients with DC presented very short telomeres, and 12 patients with BMF had telomere length < 10th percentile (27%), including two whose telomere length was < 1st percentile (5%). In addition, two familial IPF patients had very short telomeres (66%) and one sporadic IPF patient had short telomeres (7%). Flow-FISH was also used to screen the family members of one patient identified with very short telomeres who carried a mutation in the TERT gene (R685H). In this family, only the younger brother presented telomere shortening (< 1st percentile). TERT gene sequencing confirmed telomere dysfunction in this family, revealing three members with the same mutation of the proband, including the brother, with very short telomeres. For the first time, the authors were able to measure telomere length of Brazilian healthy controls and patients with telomeropathies by flow-FISH. It was shown that many BMF/IPF patients had an underlying telomere-biology disorder and, hence, telomere length measurement in clinical practice was essential to differential diagnosis of telomere diseases. It also was an important adjunct to the more laborious mutation screening in affected families. The implementation of flow-FISH as a diagnostic service is pioneering in Brazil and contributes to the study of telomere diseases in this clinical setting.

133. LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA E ANEMIA DE FANCONI EM CRIANÇAS: BREVE REVISÃO E CONSIDERAÇÕES PARA A CLÍNICA E PARA O DIAGNÓSTICO

Sousa CDN, Fernandes L, Juvenale M

Centro Universitário São Camilo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Leucemia linfóide aguda (LLA), resultante da proliferação descontrolada de blastos com características linfóides e do bloqueio na produção das linhagens sanguíneas normais, acomete 85% das crianças diagnosticadas com câncer. Alterações cromossômicas e moleculares como hiperdiploidia, fusão ETV6-RUNX1 e cromossomo Ph são encontradas em 75% a 80% dos casos de LLA infantil e sugerem que são adquiridas. Entre os numerosos fatores vinculados ao aumento do risco de leucemia aguda em crianças, a propensão para o desenvolvimento da LLA é maior naquelas que já apresentam outras desordens genéticas, como anemia de Fanconi (AF), síndrome de Down e síndrome de Bloom, entre outras. AF, doença autossômica recessiva ou ligada ao X, é resultante da mutação em um dos 16 genes FANC já identificados, que atuam no controle de mecanismos de reparo do DNA. Pacientes com AF têm uma maior predisposição ao desenvolvimento de aplasia de medula óssea, leucemia aguda e outros tumores sólidos. **Objetivo:** Revisar a literatura científica e associar fatores epidemiológicos, mecanismos fisiopatológicos e diagnósticos laboratoriais e moleculares de LLA e AF em crianças. **Material e métodos:** Estudo de revisão bibliográfica integrativa, por meio de levantamento bibliográfico nos idiomas português, inglês, espanhol e francês nas seguintes bases de dados: Bireme, LILACS, SciELO, MEDLINE e PubMed, de 1990 a 2013. **Resultados:** Estudos indicam que várias das alterações encontradas em crianças com LLA têm origem pré-natal, por meio das mudanças das células estaminais durante a hematopoiese fetal. Pacientes portadores concomitantemente de AF e LLA são um fenômeno raro, com pouquíssimos casos descritos na literatura. Após o levantamento bibliográfico, foram encontrados quatro recentes relatos de caso, ainda não relacionados nos três últimos estudos publicados, em 2003. Esses relatos apresentam a evolução clínica e o esquema terapêutico adotado, empiricamente adaptado para cada caso. **Conclusão:** O uso de relatos de caso permite uma análise restrita, uma vez que AF é doença rara, com diversidade de fenótipo. Contudo, é possível verificar que LLA e AF estão associadas a mau prognóstico e sobrevida curta e são necessários estudos adicionais para determinar esquemas terapêuticos eficazes para esses pacientes, uma vez que a toxicidade do tratamento padrão leva à ocorrência de quadros clássicos de AF, bem como para elucidar os mecanismos fisiopatológicos, as alterações cromossômicas e as características clínicas envolvidas, visando a um diagnóstico precoce.

134. AVALIAÇÃO DA DOR NA CRISE AGUDA DA ANEMIA FALCIFORME: UMA SUGESTÃO PARA A ATENÇÃO FISIOTERAPÊUTICA

Souza VDN^a, Almeida PSM^b, Guimarães AGM^a

^a Universidade do Estado do Pará (UEPA), Belém, PA, Brasil

^b Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (HEMOPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) destaca-se entre as hemoglobinopatias pela expressão marcante dos sintomas decorrentes do evento vaso-oclusivo. A dor é o principal sintoma e fator limitante, por causa do seu caráter devastador, com amplas repercussões negativas sobre o estado de saúde e a qualidade de vida das pessoas com AF. Contudo, ainda é atribuída pouca importância à avaliação e ao tratamento desse sintoma. Destaca-se a importância de avaliação adequada para uma abordagem terapêutica efetiva e enfoque multiprofissional. A avaliação adequada da dor representa um ponto fundamental para proposta fisioterapêutica individualizada. Sobre esse enfoque, objetiva-se avaliar a dor, tendo como sugestão a perspectiva do cuidado fisioterapêutico. **Material e métodos:** Pesquisa transversal, iniciada após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Pará, feita na Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará em 2012. Foram incluídos os pacientes com episódios de dor aguda da AF atendidos ambulatorialmente no HEMOPA. Os pacientes foram avaliados pelos pesquisadores com o questionário de dor McGill validado para o Brasil (BR-MPQ). Para a análise do BR-MPQ usaram-se os testes do qui-quadrado e de Shapiro-Wilk. Adotou-se o nível de 5% para rejeitar a hipótese nula. **Resultados:** Participaram da pesquisa 20 pacientes, amostra homogênea com 50% para cada sexo. A média de idade para o sexo masculino foi de 29,5 ± 7 anos e de 27,3 ± 10,3 anos para o feminino. A média do índice de avaliação da dor correspondeu a 34,5 ± 8,5 (p = 0,7163). Houve uma tendência significativa na classificação da intensidade da dor como forte (p = 0,0098). Quanto à profundidade, 70% dos participantes classificaram a dor como profunda (p = 0,0339). Na descrição do domínio sensorial houve significância estatística para dor "latejante" (p = 0,0053), "que repuxa" (p = 0,0012) e "pesada" (p = 0,0344). No domínio miscelânea predominaram as descrições de dor "que prende" (p = 0,0472), "cresce e diminui" (p = 0,0006) e "dá falta de ar" (p = 0,0074). O domínio afetivo não apresentou significância estatística. **Discussão:** Existe associação da dor profunda com o tempo de duração e com a existência de lesão visceral ou somática. A caracterização da dor neste estudo mostrou-se compatível com uma pesquisa nacional, que usou o Br-MPQ como instrumento de avaliação. Algumas semelhanças com essa pesquisa são: o índice de avaliação da dor (35,9); o descritor sensitivo do tipo "latejante" e a predominância do domínio sensitivo. O domínio sensitivo parece estar associado à dor aguda e permite inferir sobre a característica da dor nesta pesquisa. A avaliação do fenômeno doloroso na AF fornece dados valiosos necessários para a condução dos profissionais de saúde, inclusive o fisioterapeuta, acerca da conduta mais adequada a ser seguida, indicações e contraindicações e parâmetros ou dosagens dos recursos analgésicos. **Conclusão:** Apesar da conhecida importância de tais aspectos, são necessárias pesquisas que comprovem a efetividade dos recursos fisioterapêuticos no paciente com dor da anemia falciforme.

135. ANEMIA APLÁSTICA ASSOCIADA À HEPATITE AGUDA CRIPTOGÊNICA – RELATO DE CASO

Jr ES, Landgraf LAP, Oliveira MFS, Landgraf MM, Souza KJ, Pereira LP, Assis TRG, Bressa R, Bressa JAN

Hospital Regional de Presidente Prudente, Presidente Prudente, SP, Brasil

Introdução: A anemia aplástica é uma entidade rara que envolve falência hematopoética com hipoplasia medular e pode estar associada a um quadro recente ou concomitante de hepatite aguda. Sua etiologia está associada a diversos vírus causadores da hepatite e, em muitos casos, não foi possível ser identificada. Caracteriza-se por infiltração de linfócitos T em parênquima hepático com maior proporção de células CD8, as quais produzem diversas citocinas associadas à depressão medular. Apresenta-se preferencialmente em crianças e adultos jovens, sem distinção de sexo ou etnia, com intervalo entre o surgimento da hepatite e da anemia aplástica em torno de dois a três meses. O quadro clínico inclui comprometimento hepático prévio, no qual há icterícia, colúria e dor abdominal, com alteração de marcadores de lesão hepática e de

função hepática, e pode ocorrer de forma aguda, crônica ou fulminante e com comprometimento medular, no qual há palidez e sangramento, por causa da pancitopenia com reticulocitopenia. **Objetivo:** Relatar um caso dessa variante da anemia aplástica ocorrido no Hospital Regional de Presidente Prudente. **Relato de caso:** G.F.S., 19 anos, natural de Regente Feijó (SP), deu entrada neste serviço com quadro de colúria e icterícia associado a vômito e diarreia iniciado havia uma semana. No exame físico, hepatomegalia discreta. Marcador de lesão hepática elevada (AST: 1.170, ALT: 2.475), função hepática comprometida com bilirrubinas aumentadas (total: 13,74) e tempo de protrombina alargado (INR: 1,45). Feita hipótese diagnóstica de hepatite viral aguda, foram solicitadas sorologias para os principais vírus hepáticos (hepatite A, B, C, D e E), todos negativos. Sorologias para leptospirose, herpes simples, Epstein-Barr, citomegalovírus, mononucleose, parvovírus B19 e toxoplasmoze negativos. Aventada suspeita de distúrbios metabólicos, foram solicitados ceruloplasmina normal e alfa-1-antitripsina normal. Evoluiu após três semanas com plaquetopenia moderada e leucopenia leve, seguidas de queda progressiva da contagem plaquetária, quando foi solicitada avaliação da Hematologia. Por causa da persistência das alterações hepáticas mesmo após medidas clínicas e diante da possibilidade de hepatite autoimune, foram introduzidos corticosteroides e imunoglobulina. FAN, FR, antimúsculo liso, antimitocondria foram todos negativos. Não fez biópsia hepática por causa da intensa pancitopenia com severa plaquetopenia (3.000 mm³), que evoluiu. Feita a biópsia de medula, que constatou hipoplasia medular severa e confirmou o diagnóstico de anemia aplástica. Como não havia parentes HLA compatíveis, não foi possível o transplante de medula óssea. Proposto tratamento com droga antitumoral, ciclosporina e prednisona, conforme Protocolo Brasileiro de Aplasia. Evoluiu com neutropenia febril e sepse após infusão de droga antitumoral. **Conclusão:** O caso descrito ilustra uma anemia aplástica severa confirmada por biópsia medular que surgiu na concomitância de uma hepatite aguda de etiologia não definida. A aplasia de medula é uma entidade incomum. Quando associada à hepatite aguda, é mais rara. Há poucos relatos no Brasil.

136. EFEITO DA PRESENÇA DE HEMOGLOBINA SILENCIOSA NA DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA NA METODOLOGIA HPLC – RELATO DE CASO

Kamei CY^a, Lavelle NC^b, Pintao MC^b

^a Setor de Hematologia/Automação, Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

^b Setor de Hemoglobinopatias, Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A dosagem da hemoglobina glicada (A1c) é útil para o diagnóstico e a avaliação do controle glicêmico de indivíduos com diabetes mellitus (DM). Os valores de A1c refletem a média da glicose plasmática nos últimos três meses e estão diretamente relacionados ao risco de complicações crônicas do DM. A A1c é resultado da glicação não enzimática e irreversível nos resíduos de valina na porção amino-terminal da cadeia beta da hemoglobina. A concentração de A1c em indivíduos não diabéticos corresponde a aproximadamente 4% a 6% e pode alcançar até 20% em diabéticos mal controlados. O método de cromatografia líquida de alta performance (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) é, atualmente, considerado padrão ouro na determinação da A1c. Entretanto, resultados falsamente elevados ou diminuídos podem ser observados em decorrência da presença de hemoglobinas variantes. **Objetivo:** Descrever o caso de duas irmãs de 6 e 11 anos cujas amostras de sangue foram enviadas para dosagem de hemoglobina glicada. **Resultados:** Não havia história de DM e a dosagem de glicemia plasmática foi de 91 mg/dL e 80 mg/dL, respectivamente (valor de referência: 75 a 99 mg/dL). A dosagem de hemoglobina glicada foi feita inicialmente por HPLC no programa Variant (Tosoh G8[®]) e resultou em 9,7% e 10,2%, respectivamente (valor de referência para DM: > ou = a 6,5%). A análise do gráfico mostrou uma corrida irregular e com hemoglobina lábil elevada de 4,2% e 4,1% (valor de referência: 0,5 a 2%). Dessa forma, fizemos a dosagem da hemoglobina glicada pelo método de imunensaio de inibição tubidimétrica (Cobas[®]), que revelou valores de 4,6% e 4,7%, respectivamente (valor de referência: 4,8% a 5,9%). Com o intuito de investigar a presença de hemoglobina anômala que pudesse explicar essa discrepância, foi feita análise por eletroforese capilar, eletroforese em gel de agarose em pH ácido e HPLC dedicada à pesquisa de hemoglo-

binas variantes, programa beta tal (Variant II – BioRad®). Os resultados indicaram a presença de dois picos de hemoglobina variante em Z11 e Z5 na eletroforese capilar (5% e 1,2%, respectivamente) de difícil caracterização, o que sugeriu que o resultado falsamente elevado por esse método se deve à interferência dessa hemoglobina. Não foram encontradas hemoglobinas compatíveis no arquivo da Bio-Rad® que identificassem a hemoglobina em questão. A hemoglobina variante que apresentou o quadro cromatográfico e eletroforético mais semelhante foi a New York. Entretanto, para o diagnóstico definitivo é necessário o emprego de métodos moleculares. **Conclusão:** É de fundamental importância que os laboratórios de análises clínicas certifiquem-se das potenciais interferências na metodologia usada para dosagem da A1c, especialmente as hemoglobinopatias. Ao selecionar o método de análise, os laboratórios devem considerar o risco potencial dessas interferências e a prevalência dessas moléculas no grupo populacional do paciente avaliado.

137. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS PACIENTES COM HEMOGLOBINOPATIAS ACOMPANHADOS NO HEMOCENTRO REGIONAL DE SOBRAL-CE

Vasconcelos RMMAP^a, Carlos LMB^b, Parente JGM^a, Gomes FVBAP^b, Cunha MSP^a, Oliveira MA^a, Almeida JMMF^a, Parente YDM^a, Parente AMV^a, Parente MTDM^a

^a Hemocentro Regional de Sobral (HRS), Sobral, CE, Brasil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: As hemoglobinopatias estão incluídas entre as doenças hereditárias mais frequentes na população humana. O Brasil tem distribuição heterogênea, com predomínio de talassemias nas regiões Sul e Sudeste e de hemoglobinas variantes, como a Hb S e Hb C, nas regiões Norte e Nordeste. Resultam de alterações genéticas que afetam os genes relacionados à síntese da hemoglobina e/ou seus reguladores, geram um desequilíbrio quantitativo das cadeias globínicas, originam as talassemias, ou alterações estruturais em uma das cadeias de globina, e caracterizam as hemoglobinas anormais. **Objetivo:** Análise descritiva do perfil dos pacientes com hemoglobinopatias cadastrados e acompanhados no Ambulatório de Hematologia do Hemocentro Regional de Sobral (HRS), serviço de referência em hematologia para 59 municípios da Região Norte do Estado do Ceará. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo, transversal e descritivo dos pacientes com hemoglobinopatias atendidos no HRS. Os parâmetros avaliados foram: sexo, idade, procedência, profissão e diagnóstico. **Resultados:** Foram atendidos no Ambulatório de Hematologia do HRS 65 pacientes com hemoglobinopatias, dos quais 30 (46,2%) eram do sexo feminino e 35 (53,8%) do masculino. A idade variou de um a 60 anos. Os pacientes foram distribuídos da seguinte forma: 0 a nove anos: 15 (23,1%); 10 a 19: 22 (33,8%); 20 a 29: 17 (26,2%); 30 a 39: seis (9,2%); 40 a 49: quatro (6,2%); 50 a 60: um (1,5%). No que diz respeito à profissão, 48 (73,8%) eram estudantes; quatro (6,2%), agricultores; quatro (6,2%), domésticas; três (4,6%), professores; três (4,6%), vendedores e os demais, com um representante cada, com as seguintes profissões: auxiliar de produção, pescador, recepcionista. Quanto à procedência, 12 (18,5%) eram de Sobral e os demais, distribuídos em 30 municípios da região de abrangência do HRS, que totaliza 59 cidades da Região Norte do Estado do Ceará. Dos 65 pacientes, 56 (86,2%) foram cadastrados como Hb SS; três (4,6%), como α -talassemia; três (4,6%), como β -talassemia; dois (3,1%), como Hb SC e um (1,5%) como S/ β -talassemia. **Conclusão:** O perfil epidemiológico dos pacientes atendidos mostra um predomínio do sexo masculino, a maioria na faixa de 0 a 19 anos, quando as medidas profiláticas ainda são eficazes na redução do número de sequelas. A anemia falciforme (homozigose SS) representa a maior prevalência: 86,2%.

138. PADRONIZAÇÃO E UTILIZAÇÃO DA TÉCNICA DE FISH NA DETECÇÃO DE ENXERTIA DE CÉLULAS MESENQUIMAIS ESTROMAIS MULTIPOTENTES DA MEDULA ÓSSEA NO TRATAMENTO DA ANEMIA APLÁSTICA REFRACTÁRIA OU EM RECAÍDA

Tellechea MF, Clé DV, Calado RT

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A anemia aplástica (AA) imune mediada caracteriza-se pela destruição das células progenitoras hematopoiéticas (HSCs) na medula

óssea. Pacientes refratários ou em recaída após a terapia imunossupressora de primeira linha e sem um doador compatível para o transplante de medula óssea dispõem de opções terapêuticas escassas. As células mesenquimais estromais (MSCs) multipotentes constituem uma população rara na medula óssea, contribuem para a formação de nichos para as HSCs e as preservam num balanço dinâmico entre autorrenovação e diferenciação. Na AA essas funções estão alteradas e podem contribuir para a patogênese da doença. Em diversos estudos foi demonstrada a capacidade imunomoduladora das MSCs de migrar para locais de inflamação quando estimuladas por citocinas pró-inflamatórias, principalmente IFN- γ . Por causa do efeito imunomodulador das MSCs foi feito um estudo clínico de fase I que acrescentou infusões endovenosas de MSCs alogênicas ao tratamento imunossupressor de ATG leporina e ciclosporina como tratamento de segunda linha. Nove pacientes com AA refratários ou em recaída foram tratados com infusões intravenosas de MSCs alogênicas, HLA não compatíveis, derivadas da medula óssea de doadores do sexo oposto ao paciente, para facilitar a detecção de possível enxertia das células do doador na medula óssea dos pacientes por meio da técnica de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) para os cromossomos X/Y, o que permitiu a análise de grande quantidade de células. **Objetivo:** Padronizar a técnica de Fish X/Y para uso como ferramenta na detecção de enxertia de células mesenquimais da medula óssea no tratamento da anemia aplástica refratária ou em recaída. **Material e métodos:** Células mesenquimais da medula óssea de pacientes pré-tratamento e após 30, 90 e 180 dias de tratamento foram cultivadas na terceira passagem até confluência de 90%. As células foram coletadas, tratadas com solução hipotônica de KCl e, posteriormente, fixadas com solução de Carnoy (3:1 metanol: ácido acético). As células fixadas foram gotejadas em lâminas para a feitura da Fish com o uso de sonda X/Y (fluoróforo verde e vermelho, respectivamente) (Cytocell). As amostras foram previamente tratadas em solução de pepsina 0,005% para remoção de restos citoplasmáticos. Após hibridização com a sonda X/Y, os núcleos foram corados com DAPI e analisados em microscópio de fluorescência. **Resultados:** A técnica de Fish foi padronizada para detecção dos cromossomos X e Y de células mesenquimais e obtiveram-se núcleos sem restos de citoplasma e com sinais intensos para ambos os cromossomos sexuais, o que evidenciou procedimentos de fixação e hibridização eficazes. Foram analisados 200 núcleos em interface para cada amostra pré e pós-tratamento (30, 90 e 180 dias) de oito pacientes. Todas as amostras pós-tratamento mostraram populações homogêneas XX ou XY sem evidências de enxertia das células mesenquimais dos doadores de sexo oposto. **Conclusão:** A técnica de Fish para os cromossomos X/Y pode ser aplicada na detecção de enxertia de células mesenquimais estromais multipotentes da medula óssea em pacientes com AA que receberam infusão dessas células como complemento ao tratamento imunossupressor.

139. APLASIA PURA DE SÉRIE ERITROIDE IMUNOLÓGICA (OU APSE ADQUIRIDA APÓS ADMINISTRAÇÃO DE ALFAPOETINA DURANTE HEMODIÁLISE) – RELATO DE CASO

Castro MG^a, Bezerra ABS^a, Maciel JFR^b

^a Universidade Potiguar (UnP), Natal, RN, Brasil

^b Liga Norte Riograndense Contra o Câncer, Natal, RN, Brasil

Introdução: Aplasia pura de série eritroide (APSE) é uma doença rara, caracterizada por anemia grave e hipoproliferativa e marcada pela diminuição ou até inexistência de eritroblastos na medula óssea, com valor normal de precursores de outras linhagens celulares. Ocorre em torno dos 60 anos, igualmente em ambos os sexos. Pode se manifestar como doença primária ou secundária a diversas patologias, como doenças autoimunes, neoplasias, infecções virais e por medicamentos. Entretanto, na maioria dos casos, não é possível definir um fator etiológico específico. **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente portadora de APSE por eritropoetina exógena que obteve recuperação espontânea após desmame de corticoterapia imunossupressora. **Relato de caso:** Paciente, sexo feminino, 27 anos, em programa de hemodiálise por insuficiência renal crônica, recebia noripurum intravenoso e eritropoetina (alfapoetina) por via subcutânea. Evoluiu com queda do estado geral e anemia importante com frequentes necessidades transfusionais. Na investigação encontrou-se anemia normocítica e normocrômica, reticulocitopenia, leucócitos e plaquetas normais. Mielograma revelou medula óssea com intensa hipoplasia eritroide. Apresentava-se com sorologias negativas para hepatites, *Mycoplasma pneumoniae*, Parvovírus B19 e Epstein Barr, além de FAN e fator reumatoide negativos. Foi feita pesquisa de anticorpos antieritropoetina (anti-E-

PO), a qual foi positiva e corroborou a hipótese diagnóstica de APSE por eritropoetina exógena. Recebeu tratamento com corticoide em doses imunossupressoras, por quatro semanas, e suspensão imediata da eritropoetina. Foi evidenciado que, após o desmame do corticoide, apresentou melhora espontânea. Posteriormente, recebeu imunoglobulina humana para dessensibilização dos anticorpos anti-EPO. No momento, segue sem evidências clínicas e laboratoriais da doença. Aguarda transplante renal.

Discussão: Trata-se de uma paciente que desenvolveu APSE durante programa de hemodiálise, por insuficiência renal crônica, associada ao uso de eritropoetina (alfapoetina), administrada por via subcutânea. Sabe-se que os medicamentos que contêm alfapoetina têm risco de imunogenicidade aumentada na doença renal crônica quando administrados por via subcutânea. Diante disso, em doentes com anemia renal, o medicamento deve ser administrado por via intravenosa. O tratamento preconizado para a APSE de origem imunológica é a corticoterapia, com duração de três a quatro semanas. **Conclusão:** A APSE por eritropoetina é uma entidade rara, com tratamento padronizado baseado em imunossupressão, porém, neste caso, a paciente teve recuperação espontânea após o término da terapia preconizada.

140. ANEMIA DE FANCONI NA INFÂNCIA – RELATO DE CASO

Dumont SVR^a, Abreu KC^a, Ericeira MAL^a, Mendes MVG^a, Alencar LCR^a, Santos NS^a, Mendes JHP^b, Nóbrega IBAG^c, Nicolau DI^{a,b}, Cavalcante MNS^c

^a Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, MA, Brasil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), São Luís, MA, Brasil

^c Hospital da Criança Doutor Odorico Amaral de Matos, São Luís, MA, Brasil

Introdução: A anemia de Fanconi (AF) é uma doença genética de herança autossômica recessiva caracterizada por uma forte instabilidade genômica, ou seja, o DNA é suscetível a quebras e translocações por heterogeneidade fenotípica, o que inclui falência medular, múltiplas malformações congênitas, polegares anômalos ou ausentes, microcefalia, atraso mental, baixa estatura, manchas café com leite, anomalias renais e cardíacas, predisposição para o desenvolvimento de leucemia mieloide aguda (LMA). As alterações hematológicas que resultam da disfunção da medula óssea (trombocitopenia, pancitopenia progressiva) surgem habitualmente por volta dos sete anos (em média). Por causa da variabilidade fenotípica, o diagnóstico é, por muitas vezes, feito tardiamente. Na AF, o único tratamento com perspectiva de cura hematológica somente é alcançado por meio do transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH). O tratamento de apoio para os pacientes com falência medular concentra-se no uso de andrógenos, fatores de crescimento e transfusões sanguíneas. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente portador de AF que fez acompanhamento médico irregular e apresentou sucessivas intercorrências clínicas com internação hospitalar. **Material e métodos:** As informações contidas neste trabalho foram obtidas por meio de revisão do prontuário, entrevista com o responsável pelo paciente e revisão da literatura. **Relato do caso:** Paciente do sexo masculino, com história de astenia e anorexia no início na idade escolar. Fez acompanhamento pediátrico de anemia não esclarecida. Em 2012 foi encaminhado ao hematologista para investigação e seguimento. Durante esse período foi feito mielograma, que demonstrou hipocelularidade global com substituição do tecido normal por gordura, achados compatíveis com anemia aplásica. Foi em duas ocasiões internado por apresentar sangramento no sistema nervoso central e infecção de cavidade oral. Em novembro de 2013, aos sete anos, foi feito o diagnóstico de AF por meio do teste de instabilidade cromossômica. Apresentava nessa época achados de exame físico compatíveis com essa patologia: discromia de pele em face, pregas epicânticas, “fascies de passarinho”, manchas café com leite, alterações ósseas do rádio e do 4º quirodáctilo esquerdos, unhas distróficas em dedos dos pés, baixa estatura, além de fraqueza progressiva. Fez acompanhamento ambulatorial irregular e terapia de suporte. Em agosto de 2014, aos oito anos, com 16 kg e 111 cm, deu entrada em um serviço de emergência público de São Luís por apresentar palidez cutâneo-mucosa acentuada. Foi internado após exames demonstrarem: hemoglobina 3,11 g/dL, leucócitos 2.340/mm³, neutrófilos 563/mm³, plaquetas 19.200/mm³. Evoluiu com melhora do quadro clínico após receber concentrados de hemácias e plaquetas. **Conclusão:** Segue com tratamento de suporte até atingir índices hematológicos satisfatórios para alta hospitalar e seguimento ambulatorial.

141. CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE PACIENTES COM APLASIA DE MEDULA ÓSSEA E AVALIAÇÃO DE RESPOSTA AOS TRATAMENTOS FEITOS

Fernandes I, Ruiz H, Dib P, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: Aplasia da medula óssea é definida como um distúrbio do processo de produção de células hematopoéticas decorrentes da perda de tecido medular ou inibição da hematopoiese. Ocorrem dois novos casos por milhão de indivíduos a cada ano. No Oriente os números estão dobrados: quatro novos casos por milhão de habitantes a cada ano. Suas possíveis etiologias seguem desde agentes infecciosos, físicos, químicos até casos isolados de gravidez. Suas manifestações clínicas principais são astenia, petéquias, dispneia, equimoses, cefaleia e hemorragias. O diagnóstico é feito com base nos sinais e sintomas clínicos e na análise do hemograma, com as mensurações de neutrófilos, plaquetas e reticulócitos; e por meio de biópsia de medula óssea. **Objetivo:** Analisar os prontuários de 11 pacientes diagnosticados com aplasia de medula óssea que fazem o devido acompanhamento do ambulatório de Hematologia e Hemoterapia do Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS) da Pontifícia Universidade Católica (PUC-SP). **Material e métodos:** Observamos sete pacientes (63%) do sexo masculino e quatro do feminino (37%), os quais tiveram seus prontuários analisados no momento do diagnóstico e/ou no momento do encaminhamento para nosso serviço e em suas últimas consultas até o presente momento. A análise do perfil desses pacientes evidenciou uma idade média de 31,36 anos (p < 0,0001), com valor máximo de 65 e mínimo de 18 e mediana de 27. **Resultados:** Em relação à série vermelha, ao diagnóstico observaram-se significativas variações dos valores de VCM (máximo = 122,64 fL; mínimo = 80,5 fL; desvio padrão = 13,12) e Ht (máximo = 31%; mínimo = 6%; desvio padrão = 7,36). A análise da série branca ao diagnóstico evidenciou significância estatística, principalmente da contagem de leucócitos (máximo = 7.640/μL; mínimo = 800/μL; desvio padrão = 1.855,55), segmentados (máximo = 3.590/μL; mínimo = 161/μL; desvio padrão = 1.128); linfócitos (máximo = 3.260/μL; mínimo = 729/μL; desvio padrão = 746,70); plaquetas (máximo = 264.000/mm³; mínimo = 5.000/mm³; média = 72.401,8/mm³; mediana = 16.000/mm³; desvio padrão = 92.740,4). Não foram observadas significativas alterações desses parâmetros quanto ao gênero. Em relação ao tratamento, observamos que 45% dos pacientes foram submetidos ao transplante de medula óssea (TMO). **Conclusão:** Todos se encontram no momento vivos e sem a doença. Outro tratamento feito e que obteve efetividade foi o uso de ciclosporina A isolada e essa associada à prednisona em 20% dos pacientes. Desse grupo, 50% dos pacientes estão vivos e sem a doença.

142. PREVALÊNCIA DO USO DA HIDROXIUREIA EM PACIENTES PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME ACOMETIDOS POR ÚLCERAS DE MEMBROS INFERIORES

Lima MMS^a, Bezerra MS^a, Gomes ACC^b, Araújo TS^c, Andrade VR^b, Carvalho QGS^a, Vieira NFC^c

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

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

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

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia de cunho genético na qual a hemoglobina adulta normal está parcial ou totalmente substituída pela hemoglobina anormal falcêmica (SS). O defeito genético confere às hemácias um aspecto de foice quando expostas a baixa pressão de oxigênio, o que acarreta vasocclusão, por causa da aderência das hemácias ao endotélio vascular, e pode suscitar uma de suas complicações mais comuns, as úlceras de membros inferiores (MMII). Essas ocorrem com maior frequência em pacientes SS do sexo masculino, acima de 10 anos. Seu aparecimento depende de vários fatores, como o fenômeno de vasocclusão, hipóxia tecidual, hemólise e fatores genéticos e é inconclusiva a participação da insuficiência venosa na sua gênese. A hidroxiureia (HU), um conhecido agente quimioterápico, age nos portadores de AF, aumenta os níveis de hemoglobina fetal e diminui consideravelmente os episódios vasocclusivos e suas complicações. A HU tornou-se o tratamento de escolha por ser o primeiro medicamento que comprovadamente previne complicações clínicas,

melhora a qualidade de vida e aumenta a sobrevida de pacientes com doença falciforme, entre elas, a AF. **Objetivo:** Avaliar a prevalência do uso da hidroxiureia em pacientes portadores de AF acometidos por úlceras de MMII. **Material e métodos:** Estudo descritivo, transversal, de abordagem quantitativa. Feito com 17 pacientes portadores de AF acometidos por úlceras de MMII atendidos em hemocentro de Recife, de abril de 2012 a maio de 2013. A coleta de dados se deu por meio de consulta em prontuário. Foram organizados e avaliados por estatística descritiva. **Resultados:** Apenas 41,18% dos pacientes pesquisados fazem ou já fizeram uso da HU em seu tratamento. A intolerância à medicação é o único motivo relatado em prontuário que justificaria a não administração. Segundo o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Uso de Hidroxiureia na Doença Falciforme-versão 2009, a hipersensibilidade à HU implica critério de exclusão para o tratamento. Também refere o aparecimento de ulcerações na pele ou agravamento de úlceras já existentes como efeito adverso do uso da HU, fato que suscita a reflexão sobre a necessidade de aumento da vigilância no caso dos portadores de lesões em MMII. A HU em portadores de AF exerce a função de elevar os níveis de hemoglobina fetal, além de aumentar o nível de hemoglobina total e apresentar significativa redução dos reticulócitos, o que acarreta redução da hemólise e diminuição da adesividade das células falcizadas ao endotélio, evita as crises vasoclusivas e contribui para a melhora clínica do paciente. **Conclusão:** Houve predominância do não uso da HU entre os pacientes portadores de úlcera de MMII. Novos estudos sobre o tema podem esclarecer os fatores protetores e de risco para o aparecimento dessas lesões. A prevenção de úlceras deve transcender a escolha terapêutica, os cuidados com a pele devem ser tomados antes mesmo do aparecimento das lesões. Portanto, as ações de promoção e educação em saúde sobre o autocuidado e prevenção de feridas torna-se uma ferramenta a ser vislumbrada e aplicada ao manejo dessa complicação relacionada à doença.

143. SÍNDROME DE OVERLAP ENTRE ANEMIA APLÁSTICA E HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA – RELATO DE CASO TRATADO COM ECULIZUMABE

Lima RS, Barbosa AA, Silva JO, Borducchi JHM, Borducchi DMM

Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

Introdução: Anemia aplástica (AA) é uma doença de células-tronco-hematopoéticas na qual a hematopoese se encontra reduzida e resultando em pancitopenia e medula óssea hipocelular, com 30% ou menos de celularidade, excluindo os linfócitos. Cerca de 40-50% dos pacientes com AA severa apresentam um clone HPN ao diagnóstico. A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma doença clonal adquirida com manifestações clínicas variadas, dependentes de sua expressão genotípica. As mutações do gene PIG-A são necessárias, embora não suficientes, para causar a doença. Usualmente caracteriza-se por anemia hemolítica e pode também apresentar-se como aplasia medular. A associação entre HPN e AA foi descrita em 1967 e, desde então, a ligação entre as duas doenças tornou-se mais evidente. Quando a terapia imunossupressora apresentou melhor resposta em pacientes com AA severa e clone HPN, mostrou-se consistente a hipótese da expansão clonal HPN em ambiente de autoimunidade. **Relato de caso:** A.M.G.T, 66 anos, gênero feminino, com antecedente de diabetes, é internada em novembro de 2013 com quadro de fraqueza, astenia, sonolência, dores em membros inferiores, dispneia aos pequenos esforços, petéquias e equimoses por todo corpo. Nos exames laboratoriais: Hb 5,3 g/dL; LT 2.300 células/mm³; NT 690 células/mm³; plaquetas 9.000 células/mm³. BMO com celularidade menor do que 5%. A análise imunofenotípica da expressão de antígenos ligados a GPI demonstrou que 1% das hemácias apresentavam perda total de expressão de CD59. Da mesma forma, 13% dos neutrófilos apresentavam perda de expressão de CD24 e aerolisina e 19% dos monócitos apresentavam perda de CD14 e aerolisina. Paciente submetida a suporte transfusional, globulina antitrombocítica e ciclosporina, com melhora três meses após o início do tratamento imunossupressor, quando deixou de necessitar dos hemoderivados. Em maio de 2014, sete meses após entrada, iniciou terapia com eculizumabe com implemento no HMG: Hb 11,8 g/dL; LT 4.760 células/mm³; NT 2380 células/mm³ e plaquetas 88.000 células/mm³. **Conclusão:** Pacientes com AA severa associada ao clone HPN podem ter uma melhor resposta ao uso de imunossupressores e a adição de eculizumabe ao tratamento leva a implemento no hemograma.

144. HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA: EXPERIÊNCIA DO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS - UFG

Barbosa MS, Tavares RS, Kluthcouski FSM, Araújo MR, Faria DLC, Amaral CAD, Inácio PP, Nahas LC, Nascimento GR, Barbosa ADP

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: Hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma doença clonal de células-tronco hematopoéticas que pode se apresentar como anemia aplástica (AA), anemia hemolítica e trombose. A doença tem origem a partir de uma célula-tronco hematopoética multipotente que adquire uma mutação do gene PIG-A. Conseqüentemente, a célula-tronco HPN e toda a sua descendência têm uma redução ou ausência de proteínas GPI, inclusive regulador do complemento CD55. A ausência dessas proteínas torna as hemácias HPN suscetíveis a hemólise. Sendo assim, a hemoglobina plasmática livre elimina óxido nítrico e depleção de óxido nítrico no nível do tecido contribui para inúmeras manifestações HPN. A história natural da HPN é altamente variável, de indolentes para risco de vida. A sobrevida média é de 10 a 15 anos. A trombose é a principal causa de morte, mas outros podem morrer de complicações de insuficiência de medula óssea, insuficiência renal, síndrome mielodisplásica e leucemia. **Objetivo:** Mostrar as características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com diagnóstico de HPN em acompanhamento no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás de janeiro de 2010 até julho de 2014. **Material e métodos:** Foram acompanhados 11 pacientes, seis mulheres e cinco homens, entre sete e 43 anos. O tempo entre o início de sintomas e o diagnóstico de HPN oscilou de 18 anos a um mês, mas em sua maioria foi de até quatro meses. **Resultados:** Como apresentação inicial, oito pacientes tiveram pancitopenia e foram diagnosticados com anemia aplástica. Desses, cinco como anemia aplástica severa e três pacientes como anemia hemolítica. Nenhum paciente apresentou trombose até o momento. Sete pacientes estão em uso de eculizumabe, desses, três há mais de três anos. O tempo médio entre a liberação da medicação e a solicitação ao Ministério de Saúde foi de sete meses. Apenas um paciente morreu no período, durante o transplante de medula óssea. **Discussão:** A HPN é uma doença incapacitante e muitos pacientes apresentam má qualidade de vida, incluindo fadiga grave, mau estado geral de saúde, comprometimento funcional, dor e dispneia. A sobrevida tem grande variação. A história natural da HPN é um importante fator de decisão para instituição da terapia individualmente. A trombose é a principal causa de óbito, que também pode ocorrer de complicações da insuficiência da medula óssea, de insuficiência renal, da síndrome mielodisplásica e de leucemia. Antes do tratamento com eculizumabe, um anticorpo monoclonal que inibe a ativação terminal do complemento, não havia muitas opções de tratamento. O tratamento de apoio com transfusões de hemácias e plaquetas, reposição de ácido fólico e vitamina B12, anticoagulação para os casos de trombose e imunossupressão com ciclosporina era o único disponível. Até o momento, a única terapia curativa seria o transplante de medula óssea, mas com grandes riscos de óbito pelo próprio procedimento. **Conclusão:** A HPN ainda é uma doença rara, pouco conhecida pela classe médica e, talvez por isso, subdiagnosticada. Muitas pesquisas ainda estão em desenvolvimento e poderão ajudar no diagnóstico e tratamento dessa doença. Deve-se encorajar os hematologistas a formar grupos de especialistas em HPN para, assim, diminuir a morbimortalidade.

145. ANÁLISE DA GERAÇÃO DE TROMBINA EM UMA POPULAÇÃO DE INDIVÍDUOS COM CLONE HPN (HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA)

Zeinad-Valim AK, Amico EAD

Serviço de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A HPN é uma patologia rara da célula tronco hematopoética, caracterizada por anemia hemolítica adquirida com hemoglobinúria intermitente, falência medular e fenômenos tromboembólicos (TEV). A sua fisiopatologia está relacionada à deficiência da âncora de GPI, que em condições fisiológicas propicia a inativação do sistema complemento na superfície celular. De mecanismo ainda pouco compreendido, os fenômenos de TEV ocorrem em até 40% dos casos e podem atingir mortalidade superior a 50%. A demonstração da eficácia da varfarina na prevenção de tais fenômenos foi acompanhada pela recomendação de profilaxia anti-

trombótica primária nos pacientes com clone superior a 50%. Porém, a HPN está intimamente associada à insuficiência medular, e a trombocitopenia concomitante não é incomum. **Objetivo:** Pela dificuldade de manejo clínico, caracterizar o desequilíbrio hemostático na presença e ausência de insuficiência medular, por meio de um método de avaliação global da hemostasia. **Material e métodos:** O estudo foi feito de janeiro de 2010 a dezembro de 2013, de acordo com princípios éticos em pesquisa. Os indivíduos apresentaram idade entre 18 e 75, diagnóstico de HPN, aplasia medular idiopática-AAG associada ou não ao clone e normais. Foram excluídos aqueles em uso de drogas que interferissem na hemostasia no momento da coleta e/ou com fatores de risco para TEV. A análise laboratorial foi feita por geração de trombina (CAT), com e sem a adição de trombotomodulina (TM). Todos foram submetidos a avaliação bioquímica e pesquisa de trombofilias. A relação da área sob a curva de geração de trombina (ETP) com e sem a adição de TM foi usada como parâmetro para avaliação do estado procoagulante. A análise estatística foi feita com Anova e teste de razão de verossimilhanças, com $p < 0,05$. **Resultados:** Foram avaliados 36 pacientes (18 homens, 18 mulheres): 13 com clone acima de 50% e 14 com AAG; e 38 normais (17 homens, 21 mulheres). A trombofilia foi diagnosticada em 13,8% dos casos e 15,7% normais, todos excluídos da análise. A geração de trombina, mensurada pela relação ETP com TM versus ETP sem TM (relação ETP), foi maior nos pacientes com clone superior 10% se comparada à relação ETP em AAG e normais [0,63(0,32-0,88); 0,35(0,20-0,44) e 0,42(0,19-0,66) respectivamente, $p = 0,001$]. Houve redução de mais de 50% de ETP após a adição de TM no grupo normal e de AAG. Entretanto, houve resistência à ação TM naqueles com clone superior a 10% (75% de redução superior a 50% ETP com adição TM nos normais e AAG x 10% de redução no grupo HPN, $p = 0,001$). A insuficiência medular não interferiu no estado de hipercoagulabilidade dos pacientes com HPN [no grupo com plaquetometria abaixo de 100.000/mm³, grande parte (54,5%) daqueles sem clone foram sensíveis à ação da TM e nenhum paciente com clone superior a 10%, $p = 0,043$]. **Conclusão:** A hipercoagulabilidade associada à HPN pode ser demonstrada por um método de avaliação global da hemostasia e foi observada pela primeira vez em indivíduos com insuficiência medular, assim como a resistência à trombotomodulina, que pode ser um importante mecanismo de trombofilia nesta patologia. Tais achados também podem ser úteis na avaliação da contribuição dos plaquetas em outras situações paradoxais, como a SAF, TEV em território esplênico e neoplasias hematológicas, nas quais a coexistência de TEV e trombocitopenia desafia a prática clínica.

146. ÚLCERAS MALEOLARES EM PESSOAS COM ANEMIA FALCIFORME: MANEJO CLÍNICO

Advincula AF^a, Almeida GMTS^a, Nascimento FOFD^a, Barbosa SM^a, Costa PRMC^b, Silva RPM^a

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, CE, Brasil

^b Prontoser Comércio, Representação e Serviços Gerais, Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: As úlceras na região maleolar são as complicações cutâneas mais frequentes em pessoas com doença falciforme (DF). Embora as taxas de sobrevivência de pacientes DF crônicos tenham melhorado, a gestão de comorbidades, tais como as úlceras maleolares, permanece um desafio. As úlceras têm um significativo impacto psicológico, social e econômico, por causa da sua natureza recorrente e ao longo período até a cura. Atualmente, dispõe-se de diversas coberturas de curativo no mercado, que têm produzido resultados excelentes. **Objetivo:** Relatar o manejo clínico de úlcera maleolar em paciente com doença falciforme no Estado do Ceará. **Material e métodos:** Estudo descritivo, feito em um ambulatório de hemoglobinopatias, na Região Metropolitana de Fortaleza. O estudo foi feito de janeiro de 2013 a janeiro de 2014. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 29 anos, branca, casada, operadora de caixa. Portadora de úlcera venosa desde 2002. Após afastamento do trabalho e sob os cuidados e a orientação da enfermagem, para repouso e elevação dos membros, iniciou os curativos no ambulatório em 25 de janeiro de 2013. Foram usadas coberturas como alginato de cálcio, hidrogel, espuma com ibuprofeno, malha com prata, creme de barreira e bota de unna. As trocas dos curativos foram feitas a cada oito dias. **Resultados:** Após o período de um ano, conseguiu-se reverter o quadro da paciente e fechar completamente a úlcera da região maleolar. **Conclusão:** Com este caso, observamos a importância de evidenciar as

reais necessidades do paciente, o que permitiu intervir diretamente por meio do planejamento da assistência e conseguir, dessa forma, obter o resultado esperado: integridade da pele.

LEUCÓCITOS, INFLAMAÇÃO, INFECÇÃO E IMUNOLOGIA

147. IRON STATUS BIOMARKERS IN HIV-1-INFECTED INDIVIDUALS AND IMPACT OF HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY

Cunha J^a, Maselli LMF^a, Bratti APO^b, Spada C^b, Bydlowski SP^a

^a Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

Background: Individuals infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) may show changes in iron metabolism, which contribute to the progression of the infection. The direct effect of HIV-1 and/or highly active antiretroviral therapy (HAART) could be the cause. The aim of this study was to evaluate the impact of HIV-1 infection and the different HAART regimens and time of therapy on the status of iron metabolism. **Methods:** The study included 638 adult volunteers. Of these, 537 were HIV-1-infected individuals, of whom 92 did not use HAART (ART-naïve) and 441 received regimens with non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI-based; $n = 184$), and protease inhibitors (PI-based; $n = 177$), both associated with nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTI), or NRTI/NNRTI/PI ($n = 80$). HIV-1 seronegative individuals ($n = 101$) also participated in the study. This study evaluated iron status biomarkers, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), markers of infection: CD4⁺ and CD8⁺ T-cells, and HIV-1-RNA (viral load). **Results:** Iron and ferritin levels of the ART-naïve group were significantly lower when compared with the groups: NNRTI-based vs. PI-based vs. seronegative vs. NRTI/NNRTI/PI. The group NRTI/NNRTI/PI also showed a significant difference with the other groups. The other parameters of iron metabolism showed no significant differences. **Conclusions:** The results suggest that levels iron and ferritin were directly affected by HIV-1 in ART-naïve individuals and by chronic infection with NRTI/NNRTI/PI for a long period; however, the different HAART regimens do not appear to be responsible for the alterations observed.

148. IRON HOMEOSTASIS AND HEPICIDIN IN HIV-1-INFECTED INDIVIDUALS

Cunha J^a, Masselli LMF^a, Silva ALO^b, Bratti APO^b, Spada C^b, Bydlowski SP^a

^a Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

Background: Hcpidin is the main regulator of iron absorption and its tissue distribution. Its correlation with iron homeostasis in individuals infected with human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) treated with different regimens of highly active antiretroviral therapy (HAART) was investigated. **Methods:** Serum hepcidin levels were determined in 448 volunteers. Of these, 372 were HIV-1-infected individuals, and 93 did not receive HAART (ART-naïve) while 279 received HAART consisting of a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI-based) and protease inhibitors (PI-based); both were used in association with a nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI). Seventy-six additional HIV-1 seronegative individuals were enrolled in the study. The following parameters were quantified: hematological parameters, iron biomarkers, markers of infection (CD4⁺ and CD8⁺ T-cells), and HIV-1 RNA (viral load). **Results:** Serum hepcidin, iron, and ferritin levels, as well as the marker of infection, CD4⁺ T-cells, were significantly lower in the ART-naïve group compared with other groups. Additionally, transferrin saturation, iron binding capacity, hemoglobin level, and erythrocyte level were not significantly different, and anemia was not observed in the different groups. **Conclusions:** HIV-1 infection affected serum hepcidin, iron, and ferritin levels in the ART-naïve group, and the different HAART regimens restored the levels of hepcidin and iron homeostasis in HIV-1-infected individuals who had undetectable HIV-1 RNA levels.

149. SERUM HEPcidIN LEVELS CORRELATES WITH NUMBER OF CD4+ LYMPHOCYTES IN HIV-1-INFECTED INDIVIDUALS WITHOUT ANTIRETROVIRAL THERAPY

Cunha J^a, Maselli LMF^a, Bratti APO^b, Silva ALO^b, Spada C^b, Bydlowski SP^a

^a Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

Background: The control of absorption, storage and circulation of iron in the body is regulated by complex mechanisms to maintain an appropriate amount of iron in the circulation and within tissues, and avoid deficiency or overload. Hcpidin is a key hormone governing human iron homeostasis; its correlation with iron homeostasis and CD4+ lymphocytes in individuals infected with human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) was investigated. **Methods:** Serum hcpidin levels were determined in 448 volunteers. Of these, 372 were HIV-1-infected individuals, and 93 did not receive antiretroviral therapy (ART-naïve), while 279 received ART consisting of a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI-based) and protease inhibitors (PI-based); both were used in association with a nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI). Seventy-six additional HIV-1 seronegative individuals were enrolled in the study. The following parameters were quantified: hematological parameters, iron biomarkers, markers of infection (CD4+ and CD8+ lymphocytes), and HIV-1 RNA (viral load). **Results:** Serum hcpidin levels were significantly lower in the ART-naïve group compared with the NNRTI-based, PI-based, and seronegative groups. However, there were no significant differences among the other groups. In the ART-naïve group, serum hcpidin levels showed a positive correlation with the number of CD4+ lymphocytes ($r = 0.330$; $p < 0.05$), iron ($r = 0.437$; $p < 0.05$), and ferritin ($r = 0.408$; $p < 0.05$). **Conclusions:** These results suggest that serum hcpidin levels are less affected in individuals possessing a higher number of CD4+ T-cells and undetectable HIV-1 RNA levels.

150. HIV-1-RNA AND SERUM HEPcidIN LEVELS IN HIV-1-INFECTED INDIVIDUALS WITH DIFFERENT REGIMENS OF HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY

Cunha J^a, Maselli LMF^a, Bratti APO^b, Spada C^b, Bydlowski SP^a

^a Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

Background: Hcpidin is a 25-amino acid peptide hormone that is produced and secreted predominantly by hepatocytes, which circulates in the bloodstream and is excreted by the kidneys. Its correlation with iron homeostasis and HIV-1-RNA levels in individuals infected with human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) was investigated. **Methods:** Serum hcpidin levels were determined in 448 volunteers. Of these, 372 were HIV-1-infected individuals, and 93 did not receive HAART (ART-naïve), while 279 received HAART consisting of a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI-based) and protease inhibitors (PI-based); both were used in association with a nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI). Seventy-six additional HIV-1 seronegative individuals were enrolled in the study. The following parameters were quantified: hematological parameters, iron biomarkers, markers of infection (CD4+ and CD8+ lymphocytes), and HIV-1-RNA (viral load). **Results:** HIV-1-RNA was undetectable, < 50 copies/mL, in all subjects in the NNRTI-based group and the PI-based group. The ART-naïve group had elevated levels of HIV-1 RNA in comparison with the other groups. Thirty-six percent ($n = 34$) of the HIV-1-infected individuals had HIV-1-RNA levels of less than 1,000 copies/mL. HIV-1-RNA levels did not correlate with the levels of hcpidin ($r = 0.413$; $p > 0.05$), iron ($r = 0.197$; $p > 0.05$), and ferritin ($r = 0.169$; $p > 0.05$). The markers, such as CD4+ T-cells and CD8+ T-cells, showed suitable means in the treated groups. The mean values of CD4+ T-cells in the treated groups were significantly different in comparison with the ART-naïve group, and the median number of CD8+ T-cells was not significantly different. **Conclusions:** These data showed that the groups of HIV-1-infected individuals treated with HAART had an acceptable immune status while they were participating in the study, and that HIV-1-RNA levels of individuals without HAART did not affect the levels of hcpidin.

151. THE MODERN HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY (HAART) RESTORES SERUM IRON AND HEPcidIN LEVELS IN HIV-1-INFECTED INDIVIDUALS

Cunha J^a, Maselli LMF^a, Bratti APO^b, Spada C^b, Bydlowski SP^a

^a Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

Background: Iron absorption, plasma iron concentrations, and tissue iron distribution are tightly controlled by the liver-produced hormone hcpidin, the principal regulator of iron absorption and its tissue distribution. Its correlation with iron homeostasis in individuals infected with human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) treated with different regimens of highly active antiretroviral therapy (HAART) was investigated. **Methods:** Serum hcpidin levels were determined in 448 volunteers. Of these, 372 were HIV-1-infected individuals, and 93 did not receive HAART (ART-naïve), while 279 received HAART consisting of a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI-based) and protease inhibitors (PI-based); both were used in association with a nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI). Seventy-six additional HIV-1 seronegative individuals were enrolled in the study. The following parameters were quantified: hematological parameters, iron biomarkers, markers of infection (CD4+ and CD8+ T-cells), and HIV-1 RNA (viral load). **Results:** The serum iron levels in the ART-naïve group (77 ± 25 µg/dL) were significantly lower than in the groups: NNRTI-based (88 ± 25 µg/dL), vs. PI-based (85 ± 23 µg/dL) vs. seronegative (86 ± 18 µg/dL), $p < 0.05$. The serum hcpidin levels in ART-naïve (261 ± 137 µg/dL) group were significantly lower than in the groups: NNRTI-based (388 ± 184 µg/dL), vs. PI-based (406 ± 205 µg/dL) vs. seronegative (352 ± 119 µg/dL), $p < 0.05$. Additionally, transferrin saturation, iron binding capacity, hemoglobin level, and erythrocyte level were not significantly different, and anemia was not observed in the different groups. **Conclusions:** Modern therapies (HAART) and their treatment regimens allowed the restoration of serum levels iron and hcpidin in HIV-1-infected individuals.

152. REDUCTION OF SERUM FERRITIN AND HEPcidIN IN INDIVIDUALS INFECTED WITH HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TYPE 1 (HIV-1) WITHOUT HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY (HAART)

Cunha J^a, Maselli LMF^a, Bratti APO^b, Spada C^b, Bydlowski SP^a

^a Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

Background: The observed changes in serum ferritin levels are similar to the changes observed in the levels of hcpidin. Thus, levels of ferritin and hcpidin decrease in response to low iron stores, in order to increase the store of iron. This study investigated serum ferritin and hcpidin in individuals infected with human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) with highly active antiretroviral therapy (HAART) and without HAART (ART-naïve). **Methods:** Serum ferritin and hcpidin levels were determined in 448 volunteers. Of these, 372 were HIV-1-infected individuals, and 93 did not receive HAART (ART-naïve), while 279 received HAART consisting of a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI-based) and protease inhibitors (PI-based); both were used in association with a nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI). Seventy-six additional HIV-1 seronegative individuals were enrolled in the study. The following parameters were quantified: hematological parameters, iron biomarkers, markers of infection (CD4+ and CD8+ lymphocytes), and HIV-1 RNA (viral load). **Results:** The serum ferritin levels in the ART-naïve group (212 ± 57 ng/dL) were significantly lower than in the groups: NNRTI-based (185 ± 54 ng/dL), vs. PI-based (181 ± 62 ng/dL) vs. seronegative (212 ± 57 ng/dL), $p < 0.05$. The serum hcpidin levels in the ART-naïve (261 ± 137 µg/dL) group were significantly lower than in the groups: NNRTI-based (388 ± 184 µg/dL), vs. PI-based (406 ± 205 µg/dL) vs. seronegative (352 ± 119 µg/dL), $p < 0.05$. Additionally, transferrin saturation, iron binding capacity, hemoglobin level, and erythrocyte level were not significantly different, and anemia was not observed in the different groups. **Conclusions:** The reduction of serum ferritin and hcpidin were observed only in the ART-naïve group, demonstrating that in HIV-1-infected individuals receiving HAART, such values are restored by modern therapy.

153. P2X7 RECEPTOR: A POTENCIAL REGULATOR IN THE IMMUNOMODULATION OF THE CHAGAS DISEASE

Souza VDCG^a, Santos JTD^a, Cabral FL^a, Azevedo MI^b, Machado VS^a, Silveira KL^a, Botton SA^a, Goncalves PBD^a, Leal DBR^a

^a Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brazil
^b Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil

Chagas disease (CD), caused by *Trypanosomacruzi*, is a serious health problem in Latin America. The protozoa triggers a chronic inflammatory process in the human host and affects the purinergic system, which plays an important role in modulating the inflammatory and immune responses with signaling molecules, such as ATP. Extracellular ATP can serve as a physiological signal for intercellular communication as well as a noxious signal that promotes cell death. ATP modulates a variety of cellular functions by activating P2X or P2Y receptors. The P2X7 receptor is widely distributed *in vivo*, and its expression is always observed to be up-regulated in pathological inflammatory circumstances. It is known that P2X7 has a role in pro-inflammatory cytokines release, antigen presentation, lymphocyte proliferation, and differentiation. The aim of this study was to evaluate the P2X7R mRNA expression levels in peripheral lymphocytes from patients with indeterminate form of CD (IFCD), and to investigate its involvement in inflammatory responses during IFCD. The study was constituted by two groups: healthy subjects (n = 9) and IFCD patients (n = 6). The IFCD group was diagnosed by two positive serologic reactions for CD. In addition, the patients were asymptomatic and showed normal conventional electrocardiogram and radiological heart, esophagus, and colon images. The lymphocytes were isolated by Ficoll-Histopaque density gradient. P2X7 receptor mRNA expression level was evaluated by qRT-PCR, whereas the P2X7 protein expression and densitometry was analyzed by Western blot. The differences between the groups were analyzed by Student's t-test, with p < 0.05 considered significant. The results demonstrated that no significant difference was found in both the P2X7 receptor mRNA expression level and the P2X7 protein density in lymphocytes from IFCD patients (p > 0.05). CD causes a systemic infection that is controlled by host immune responses. T cells play an important role in the establishment and development of CD, exhibiting both immunoregulatory and effector functions. Various factors are required for the onset of clinical chronic phase of CD, one of which is the production of pro-inflammatory cytokines. P2X7R has been implicated in inflammatory cytokine release, and is closely related to inflammatory diseases. Thus, it is proposed that the activation of P2X7R signaling pathways by extracellular ATP change also is involved in the disease development. P2X7R gene polymorphisms have been shown to be associated with the ability of the P2X7R signaling to stimulate IL-1 β secretion. Then, if the P2X7R signaling pathway contributes to development of the clinical disease, it might be a key regulator of CD. Most of the infected patients show IFCD, which results from a blend of Th1 and Th2 responses after infection. In a previous study by the present group, it was suggested that decreased E-NTPDase and E-ADA activities in lymphocytes of these patients were involved in the maintenance of balance between parasitism and tissue integrity by a down-modulation of pro-inflammatory cytokines. Therefore, the lack of alteration in the P2X7R expression in lymphocytes from IFCD patients suggests that P2X7R polymorphism could possibly explain the clinical phenomenon that just 25-30% of patients infected develop the disease. These findings will pave a new road for the pathogenesis of CD and point to new targets for prevention and treatment.

154. HISTOPLASMOSE DISSEMINADA – RELATO DE CASO E REVISÃO DA LITERATURA

Assuncão DR^a, Assuncão JB^b, Mattiuzzo GM^a, Velano CE^a

^a Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Hospital Municipal de Rio Verde, Rio Verde, GO, Brasil

Introdução: A fungemia é um achado hematológico raro, que, quando presente, é indicativo de gravidade. Em pacientes com Aids, tem aumentado a ocorrência de histoplasmose progressiva disseminada (HPD), considerada uma infecção oportunista de alta mortalidade. A aquisição do *Histoplasma capsulatum* ocorre através da via respiratória e a sintomato-

logia respiratória é variável, com manifestações agudas ou crônicas. Além de sintomas inespecíficos, como febre, adinamia, perda de peso e tosse, pode ocorrer hepato/esplenomegalia e adenomegalia. A disseminação hematogênica do fungo, a partir do foco pulmonar primário, causa a histoplasmose generalizada. Os achados laboratoriais podem ser: pancitopenia, elevação da desidrogenase láctica e elevação de enzimas hepáticas. A radiografia de tórax poderá apresentar infiltrado intersticial; contudo, o mais característico da histoplasmose disseminada é o retículo nodular semelhante ao infiltrado miliar visto na tuberculose. A terapêutica mais usada são antifúngicos, como anfotericina B e itraconazol. **Objetivo:** Ilustrar o achado de fungemia e destacar a importância das infecções oportunistas em pacientes com Aids. **Relato de caso:** L.D.S., 27 anos, casada, natural de Rio Verde (GO). Dá entrada no hospital com quadro de febre, taquipneia, insuficiência respiratória; admitida na unidade de terapia intensiva por causa da gravidade do quadro. Foram feitos radiografia de tórax e hemograma. A radiografia mostrou infiltrado difuso bilateral, de aspecto algodoadoso, sugestivo de pneumonia fúngica; o hemograma mostrou anemia e leucopenia. A paciente informou que sabia ser portadora de HIV, mas não fazia tratamento. No exame do sangue periférico, foram encontrados numerosos fungos capsulados, inclusive intracelulares. Esse achado, associado à clínica e à radiografia de tórax da paciente, confirmou o diagnóstico de histoplasmose com fungemia por causa da imunossupressão pelo HIV. Foi iniciado tratamento com anfotericina B, mas a paciente foi a óbito por insuficiência respiratória e choque com 12 horas de evolução após o diagnóstico. **Discussão:** O *Histoplasma capsulatum* causa doença disseminada em mais de 95% dos casos de Aids. A doença pode apresentar-se com início agudo, fulminante, semelhante a uma síndrome séptica. Entretanto, a apresentação mais comum é de evolução subaguda, com quadro arrastado, sintomas respiratórios e acometimento do sistema macrofágico-linfoide (adenomegalia e hepatoesplenomegalia). A histoplasmose disseminada geralmente ocorre quando o nível de linfócitos T CD4 está abaixo de 200 células/mm³ e frequentemente é fatal. O diagnóstico da histoplasmose baseia-se no encontro do fungo em secreções e/ou tecidos e nas reações sorológicas específicas. A detecção de antígeno é o método mais útil para o diagnóstico da histoplasmose disseminada em pacientes com Aids. O antígeno polissacarídeo do fungo pode ser detectado no sangue em 85% e na urina em 95% dos casos e pode ser pesquisado também no líquido e nas secreções respiratórias. A terapêutica depende do quadro clínico e do estado imune do hospedeiro. O *Histoplasma capsulatum* é sensível a antifúngicos como anfotericina B, itraconazol, cetoconazol e fluconazol, porém, na forma disseminada, a anfotericina B tem sido o medicamento mais efetivo no tratamento.

155. ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS RELACIONADAS AO ANTICOAGULANTE EDTA: VACUOLIZAÇÃO CITOPLASMÁTICA NOS NEUTRÓFILOS, FAGOCITOSE PLAQUETÁRIA E SATELETISMO PLAQUETÁRIO

Mendes CEA, Monteiro CB, Saldanha AFA, Silveira PAA, Colombini MP

Laboratório de Hematologia e Coagulação, Laboratório Clínico, Departamento de Medicina Diagnóstica e Preventiva, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Relatar um caso de alterações morfológicas relacionadas ao anticoagulante EDTA potássico, como vacuolização citoplasmática em neutrófilos, fagocitose plaquetária e sateletismo plaquetário, e ressaltar a importância da análise morfológica e dos histogramas apresentados pelos equipamentos. **Material e métodos:** Paciente S.O.R., feminina, 73 anos, acompanhada em nosso hospital em diferentes momentos. A última internação foi para procedimento cirúrgico. Os hemogramas solicitados foram coletados em tubo EDTA potássico (Sarsted[®]) e processados nos equipamentos Sysmex XE2100 (Roche[®]) e foram feitos esfregaços das amostras coradas segundo May Grunwald Giemsa. **Resultados:** Foi observada a ocorrência de intensa vacuolização nos neutrófilos, por vezes com fagocitose, que a princípio parecia tratar-se de infecção por *Ehrlichia* em diferentes esfregaços sanguíneos e, ainda, o fenômeno de sateletismo. A possibilidade da infecção foi descartada por meio dos resultados microbiológicos e pela avaliação das lâminas por especialista médico. Como nos histogramas havia flags de agrupamentos plaquetários, para descartar alguma espécie de fenômeno *in vitro* foi solicitada coleta em tubo contendo EDTA, magnésio e citrato de sódio 3,2% (Sarsted[®]). Quando analisadas essas amostras à microscopia óptica, já não mais apresentavam as alterações descritas. **Conclusão:** Ficou ainda mais ressaltada a importân-

cia da revisão morfológica, da análise dos histogramas e da obtenção de amostra em diferentes tipos de anticoagulantes, mesmo sendo esse um fenômeno raro de interferência pré-analítica.

156. ESTUDO CITOLÓGICO DE LÍQUIDO DE CISTO DE SEIO MAXILAR COM PRESENÇA DE CRISTAIS DE COLESTEROL

Saldanha AFA, Mendes CEA, Souza CLEM, Silveira PAA, Colombini MP

Laboratório de Hematologia e Coagulação, Laboratório Clínico, Departamento de Medicina Diagnóstica e Preventiva, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Relatar um raro caso da presença de cristais de colesterol em líquido de cisto de seio maxilar observado durante o estudo citológico. **Materiale métodos:** Paciente L.A.A.R., feminina, 38 anos, com história de sinusite de repetição, fez tomografia computadorizada que evidenciou a presença de cistos de retenção/pólipos nos seios maxilares, maior à esquerda, onde ocupa quase toda a cavidade paranasal. Foi internada para procedimento cirúrgico. Líquido proveniente do cisto do seio maxilar à esquerda foi enviado ao nosso laboratório para análise. Foi feita contagem global da celularidade em câmara de Neubauer, feita análise da amostra em luz polarizada e foram confeccionadas lâminas na citocentrífuga, coradas segundo May Grunwald Giemsa para a contagem diferencial das células. Para o Laboratório de Anatomia Patológica (AP) foram enviadas as tonsilas direita e esquerda e septo nasal. **Resultados:** A contagem global na câmara de Neubauer foi de 37 leucócitos/mm³ e 460 hemácias/mm³. Ficou evidenciada a presença de numerosas placas de cristais de colesterol confirmadas sob a luz polarizada. O resultado da contagem diferencial foi 2% de neutrófilos, 82% de linfócitos e 16% de monócitos, também com numerosos cristais. O laudo da AP para as tonsilas foi de hiperplasia linfóide reacional folicular e presença de microcistos no epitélio das criptas. **Conclusão:** Na literatura, apenas 40 casos da presença de cristais de colesterol em seio maxilar relacionados à entidade granuloma de colesterol foram relatados. Embora não tenha sido confirmada na AP a presença de granuloma de colesterol, por não ter sido enviada a cápsula do cisto rompido, esse achado é extremamente incomum e ressalta a importância da análise criteriosa e completa da amostra.

157. COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS LIBERADOS AUTOMATICAMENTE PELO ANALISADOR HEMATOLÓGICO SYSMEX XE-5000 COM A MICROSCOPIA ÓTICA

Spezia J, Hermann PB, Hauser AB, Comar SR, Silva PH, Henneberg R, Leonart MSS, Nascimento AJD

Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A comparação entre a contagem diferencial de leucócitos manual e automatizada tem sido alvo de inúmeros estudos nos últimos anos. Para evitar resultados falso-negativos, que podem comprometer o diagnóstico de algumas doenças hematológicas, a implantação da liberação direta do hemograma deve seguir critérios rigorosos. **Objetivo:** Determinar a correlação da contagem diferencial dos leucócitos entre o analisador hematológico Sysmex XE-5000 e a microscopia ótica. **Materiale métodos:** Foram selecionadas 628 amostras liberadas automaticamente da rotina semanal da Unidade de Apoio Diagnóstico do Hospital de Clínicas da UFPR processadas pelo analisador hematológico Sysmex XE-5000. Os critérios de inclusão foram: (1) contagem total de leucócitos entre $\geq 4 \times 10^9/L$ e $\leq 17 \times 10^9/L$ e (2) ausência de alarmes morfológicos quantitativos e qualitativos. Foram analisadas as extensões sanguíneas de todas as amostras com a contagem diferencial de 200 leucócitos (baseado H20-A2). Todos os dados foram analisados estatisticamente com planilha do Excel (Microsoft) e pacote estatístico Statistic 10.0 (StatSoft) com análise de regressão e correlação e teste t pareado. **Resultados:** A comparação entre os valores médios de neutrófilos e eosinófilos não apresentou diferença entre a contagem manual e automatizada ($p > 0,05$). A contagem de linfócitos, monócitos, basófilos e granulócitos imaturos (IG) apresentou diferença significativa entre as médias pelo teste t ($p < 0,05$). De acordo com a análise de regressão e correlação, os neutrófilos ($R = 0,926$), linfócitos ($R = 0,926$), monócitos ($R = 0,629$) e eosinófilos ($R = 0,886$) apresentaram boa correlação entre as contagens. Entretanto, os monócitos, apresentaram maior taxa de erro casual e sistemático. Os basófilos e os granulócitos imaturos apresentaram baixa correlação ($R = 0,253$ e $0,362$, respectivamente) entre as contagens e erro casual e sistemático elevado.

Conclusão: Os resultados obtidos indicam uma boa correlação entre os leucócitos de maior frequência na contagem diferencial (neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos). A contagem de basófilos e IG apresentou baixa correlação, provavelmente por causa da pequena incidência dessas células em amostras normais. A liberação direta das contagens executadas pelo analisador Sysmex XE-5000 em amostras consideradas normais é metodologia confiável, o que proporciona aos laboratórios que usam esse equipamento segurança e agilidade na prestação dos serviços. É importante ressaltar que os resultados devem ser aplicados de maneira seletiva, visto que os dados foram obtidos em equipamento que analisa os leucócitos por dispersão a laser por meio da fluorescência emitida pelos leucócitos após adição do corante polimetina.

158. RELATO DE CASO SOBRE PSEUDOEOSINOFILIA NA PRESENÇA DE PLASMODIUM VIVAX

Saldanha AFA, Villarinho AAR, Mendes CEA, Silveira PA, Colombini MP

Laboratório de Hematologia e Coagulação, Laboratório Clínico, Departamento de Medicina Diagnóstica e Preventiva, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Relatar um caso de pseudo eosinofilia apresentada pelos equipamentos Sysmex XS1000i e XE2100 (Roche) na presença de *Plasmodium sp*; ressaltar a importância da análise morfológica e dos histogramas apresentados pelos equipamentos. **Materiale métodos:** Paciente P.M.M.S.C., sexo feminino, 46 anos, procurou uma unidade de pronto atendimento do Hospital Israelita Albert Einstein (Unidade Alphaville) e relatou febre. Foi solicitado um hemograma processado no equipamento Sysmex XS1000 i. O resultado apresentou eosinofilia e plaquetopenia. Foram encontrados: WBC 5,52/mm³, eosinófilos 15% e # 830/uL, plaquetas 107.000/mm³. Baseado nos critérios internos de revisão de lâminas consideradas positivas, o material foi enviado para a Central de Hematologia (Unidade Morumbi). Como é de rotina, o tubo de EDTA foi processado novamente no equipamento Sysmex XE2100 e confirmou o resultado do XS1000i. Foi feito o esfregaço de sangue periférico e a diferenciação da análise morfológica em esfregaço sanguíneo corado segundo May Grunwald Giemsa e constatou-se uma falsa eosinofilia pelos equipamentos. Quando analisada a série vermelha foi detectada a presença de *Plasmodium vivax*, formas maduras (trofozoítas) e algumas formas mais jovens (gametócitos) e a contagem diferencial apresentou apenas 1% de eosinófilos. Foi processado um teste rápido imunológico para Malária da DiaMed que teve o resultado positivo para *Plasmodium sp*, que excluiu *Plasmodium falciparum*, além da realização da gota espessa corada segundo Giemsa. Após revisão médica, foi feito contato com o médico do pronto atendimento, que relatou viagem recente da paciente para região endêmica. O exame foi enviado para serviço especializado em diagnóstico de malária, para confirmação e liberação da medicação. **Resultados e conclusão:** Confirmação do resultado por infestação de *Plasmodium vivax*; uma demonstração de que em raros casos os equipamentos automatizados podem confundir a contagem de eosinófilos com o pigmento malárico presente nos parasitas (*Plasmodium sp*) e ocasionar a pseudo eosinofilia. Diante disso, é importante a análise do histograma junto com a análise morfológica com a coloração adequada e atenção do colaborador.

159. NEUTROPENIA EM PACIENTES COM CÂNCER COLORRETAL DURANTE TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO

Souza IP, Arruda ABL, Lemes RPG, Barros AEC, Santos FM, Cavalcante MM, Ferreira LC, Oliveira LDS, Ferreira CMS, Silva ANQ

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

Introdução: A neutropenia é a principal reação adversa causada pelo 5-Fluoruracila, fármaco presente nos protocolos quimioterápicos Folfox e Folfiri usados para tratamento de câncer colorretal. **Objetivo:** Determinar as características dos pacientes com câncer colorretal que desenvolveram neutropenia durante o tratamento quimioterápico. **Materiale métodos:** Estudo observacional, descritivo e retrospectivo feito a partir da análise de 38 prontuários de pacientes com câncer colorretal em tratamento. **Resultados:** Observou-se que 57% dos pacientes tinham entre 51 e 70 anos, com maior incidência no sexo feminino. O estágio clínico predominante foi o III (53%), seguido do II (31%). Dos 38 prontuários analisados, durante 570 ciclos, foram registradas 195 reações adversas do tipo neutropenia com prevalência de grau II (glóbulos brancos $2-3 \times 10^9/cel/L$). A

neutropenia é mais incidente em pacientes entre 50 e 70 anos e pode ocorrer durante qualquer ciclo de ambos os protocolos do presente estudo. **Conclusão:** Tornam-se necessários exames hematológicos frequentes e o acompanhamento em longo prazo desses pacientes.

160. BONE MARROW NECROSIS – A LITERATURE REVIEW

Cabral TCDS, Fernanddes CM, Lage LA, Zerbini MC, Pereira J

Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Bone marrow necrosis (BMN) is a rare entity, and most of cases are recognized only post mortem. Since its first description by Wade and Stevenson in 1941, in a patient with sickle cell disease, it has been associated with a variety of medical conditions. As this disease was only recently recognized as a distinct clinic entity and thus its diagnosis remains difficult, the authors performed a review of the literature in order to highlight its main clinical, etiological, and physiopathological aspects. The incidence of bone marrow necrosis is extremely variable, and ranges from 0.3% to 37%. BMN has been associated with many diseases and frequently multiples factors may be found. Neoplasias are responsible for 90%; of these, 60% are hematological malignancies. Acute lymphoblastic leukemia is the most common cause and acute myeloid leukemia is the second. The association of BMN with solid malignancies is less consistent. Gastric tumors are the most frequent but others primary localizations have been described. Other causes described include hematological diseases such as sickle cell disease, hemolytic uremic syndrome, graft versus host disease, megaloblastic anemia, malignancies, and disseminated intravascular coagulation. Infectious diseases, drugs (alpha-IFN, fludarabine, G-CSF, tretinoin, diclofenac, and paracetamol) can be related to BMN. Idiopathic cases have also been described. The main clinical features associated to BMN are non-specific. Bone pain is the most common (80%), usually severe, with acute onset, and generalized. Fever, anemia, and jaundice are seen in 55% to 70% of cases. BMN is a rare cause of bone marrow failure (0.5-1.0%) and cytopenias are the main laboratory abnormality: anemia (90%) and thrombocytopenia (80%). The white blood count is not characteristic and may be normal or reduced; however, if the patient presents leukocytosis, abnormal cells are common. A eucoerythroblastic finding in the peripheral blood is present in 50% of cases. High levels of lactic dehydrogenase and alkaline phosphatase are frequent. The main procedures for diagnosis are bone marrow aspirate, bone marrow biopsy (BMB), and nuclear magnetic resonance imaging (NMRI). BMB is the most illustrative and requires an expert pathologist. The main findings observed in the bone marrow histology are an amorphous and eosinophilic substance disperse in the extracellular space. Rare cells showing a few delimited cytoplasmic membranes with irregular nuclei and shrunken or vacuolated cytoplasm may be also found. In NMRI, a diffuse and extensive increase of liquid content, usually in vertebral body and pelvic bones, may be seen. The approach in BMN involves treatment of the cause together with supportive care. The majority of studies consider BMN to have a poor prognosis, evolving to death in a short time. However, new studies have shown that if the BMN is not associated to neoplasia, the survival may be prolonged. Based on this review, the authors concluded that BMN is an entity usually associated to many diseases and yet with no a clear pathophysiology. In addition, clinical and laboratorial characteristics are non-specific; in many cases, the symptoms are related to the causal condition, which is more commonly a hematological entity. Finally, one of the most important conclusion is that in all case of BMN a malignant disease must be discarded.

161. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA AZATIOPRINA, PREDNISONA E HIDROXICLOROQUINA NA EXPRESSÃO DE FENÓTIPOS LINFOCITÁRIOS DE PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

Loures CMC^a, Ferreira KS^a, Silva MVF^a, Consoli RV^b, Neiva CLS^b, Pádua PM^b, Guimarães TMPD^a, Toledo VPCP^a, Carvalho MDC^a

^a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune multissistêmica de etiologia ainda não bem compreendida. A patogênese da doença é extremamente complexa, com vários estudos que mostram alterações em diversos fenótipos linfocitários. Para o tratamento dessa doença é recomendado o uso de medicamentos com ação conhecida no sistema imunológico. **Objetivo:** Investigar se os medicamentos azatioprina,

prednisona e hidroxicloroquina interferiram na expressão fenotípica das células T, B e NK em 30 pacientes com LES sob tratamento. **Material e métodos:** Marcadores de células NK, T e B, tais como CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD56, HLA-DR, NKG2D e FoxP3, foram avaliados em linfócitos do sangue periférico por meio da técnica de citometria de fluxo. A análise do efeito da azatioprina sob os fenótipos celulares foi feita em um grupo de 12 pacientes em uso do medicamento, cujos resultados foram comparados com os de 18 pacientes que não estavam em uso desse medicamento, enquanto para análise do efeito da prednisona na expressão desses fenótipos foram comparados um grupo formado por oito pacientes com dose abaixo de 10 mg e outro formado por 17 pacientes com dose a partir de 10 mg. Não foi possível formar um grupo de não usuários de prednisona por causa do número limitado de pacientes. Quanto aos possíveis efeitos da hidroxicloroquina sobre a expressão do fenótipo celular, foram comparados dois grupos, um formado por 20 pacientes em uso desse medicamento e outro composto por 10 que não estavam em uso. De todos os fenótipos estudados, foi observada diferença entre tratamentos apenas para população de células NK em pacientes em uso de hidroxicloroquina. **Resultados:** A comparação entre os resultados dos usuários ou não desse medicamento mostrou um aumento percentual para a população de células NK, CD3⁺CD56⁺ (p = 0,002; Mann-Whitney) nos usuários de hidroxicloroquina. **Conclusão:** O resultado inédito aponta o efeito do tratamento com hidroxicloroquina na população de células NK. O conhecimento da ação desse medicamento em pacientes com LES poderá ajudar a compreender melhor os efeitos da hidroxicloroquina no sistema imunológico. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

162. CARACTERÍSTICAS DE PACIENTES ONCO-HEMATOLÓGICOS COM GALACTOMANANO POSITIVO EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Alves LC, Souza LKHE, Costa BCL

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: Pacientes com doenças onco-hematológicas apresentam alto risco de adquirir infecções por causa da gravidade da doença de base e do tratamento agressivo com quimioterápicos, o que leva a uma imunossupressão prolongada. Entre essas infecções, a aspergilose invasiva (AI) tem grande importância clínica, porque apresenta alta taxa de mortalidade. O diagnóstico da AI é feito pelo exame anatomopatológico, por tomografia de tórax, cultura do fungo *Aspergillus spp* e dosagem sorológica do antígeno galactomanano (GM). A pesquisa de GM consiste em uma ferramenta útil no diagnóstico de AI. O GM é um componente da parede celular de espécies de *Aspergillus*, liberado durante o crescimento do fungo no tecido do hospedeiro. A análise desse antígeno por ensaio imunoenzimático no soro de pacientes tem sido usada para diagnosticar a AI, com uma sensibilidade em torno de 96,8% e especificidade de 82,4%. Além das espécies de *Aspergillus*, outros fungos, como *Cryptococcus spp* e *Paracoccidioides spp*, podem produzir esse antígeno. **Objetivo:** Analisar retrospectivamente 84 prontuários de pacientes onco-hematológicos que estiveram internados em um hospital universitário entre janeiro e dezembro de 2013. **Material e métodos:** Somente prontuários de pacientes com resultado positivo para GM foram incluídos. Coletaram-se dados epidemiológicos, clínicos, hemocultura e hemograma, analisados com o *software* Epi-Info 3.5.2/2010. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa sob o número 090/2013. **Resultados:** De 84 pacientes internados, 13 (15,5%) tiveram a pesquisa de GM positiva com o kit Platelia™ *Aspergillus*. A idade variou de 21 a 66 anos, com média de 44. Foram oito (63,5%) mulheres e nove (36,5%) homens. Constataram-se três (23%) pacientes com aplasia de medula óssea, três (23%) com leucemias linfóides, três (23%) com leucemias mielóides, dois (15,4%) com linfomas, um (7,8%) com síndrome mielodisplásica e um (7,8%) com síndrome de Richter. Os resultados de hemocultura mostraram o isolamento de bactérias em seis (40%) pacientes. Foram identificados *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecium*. O hemograma revelou uma variação na contagem celular de 5.520 a 28 neutrófilos por μ L. Nove (69,3%) pacientes estavam neutropênicos (< 500 neutrófilos por μ L). **Conclusão:** A neutropenia é um importante fator de risco, assim como o uso prolongado de antibióticos de amplo espectro, uso de quimioterápicos e contato com outros pacientes. Este estudo mostra o perfil de pacientes com GM positivo e suas comorbidades e alerta para a necessidade da pesquisa da presença de fungos nos pacientes.

Referências:

- Xavier MO, Pasqualotto AC; Cardoso IC; Severo, LC. Cross-Reactivity of *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, and *Cryptococcus* species in the commercial Platelia Aspergillus enzyme immunoassay. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16(1):132-3.
- Hadrich I, Makni F, Cheikhrouhou F, Neji S, Amouri S, Sellami S, et al. Clinical utility and prognostic value of galactomannan in neutropenic patients with invasive aspergillosis. *Pathologie Biologie.* 2012;60(6):357-61.
- Ruiz-Camps I, Jarque I. Enfermedad fúngica invasora por hongos filamentosos en pacientes hematológicos. *Rev Iberoam Micol.* 2014 [ahead of print].

163. CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL DE LINFÓCITOS T NA DOENÇA DE ROSAI-DORFMAN ANTES E APÓS QUIMIOTERAPIA

Garcia FB, Souza BMB, Silva MV, Oliveira LR, Moraes-Souza H

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brasil

Relato de caso: Paciente masculino, 57 anos, com quadro prolongado e progressivo de linfadenopatia maciça intratorácica e abdominal. Foi feita análise imunoistoquímica de adenopatia torácica e produto de nefrectomia esquerda compatível com doença de Rosai-Dorfman (DRD) (CD68+ e S100+ em histiócitos), com exclusão de linfoma associado. Indicação de quimioterapia sistêmica se fez por compressão de vias urinárias e infiltração renal com risco de insuficiência renal progressiva e terminal (ClCr 59 mL/min/m²). Paciente fez tratamento quimioterápico com cladribina (2CdA) (4,5 mg/m²/quatro dias, quatro ciclos) e evoluiu com doença estável em restadiamento pós-quimioterapia. **Material e métodos:** Foi feita a avaliação da resposta imune mediada por linfócitos T por citometria de fluxo antes e após quimioterapia de DRD sintomática. **Resultados:** Antes do tratamento, 38,6% do total de linfócitos T CD3+ eram CD4+, 52,7% CD8+ e 8,7% NKT CD56+. Entre os linfócitos citotóxicos, 78,1% expressaram marcadores de ativação (CD8+CD69+). Dos linfócitos CD3-, 0,5% eram NK (CD56+). Após o término do tratamento, documentaram-se aumento de células CD8+ (75,9%), redução de células CD4+ (19,3%) e NKT (4,8%) e aumento das células NK (0,9%). Apesar do aumento na proporção de células CD8+, verificou-se redução de células ativadas (2,9%). **Discussão:** A cladribina é um quimioterápico atuante no metabolismo purínico, que inibe a síntese e a reparação do DNA, com atividade citotóxica para linfócitos e monócitos (ativos e inativos). Isso explica a grande diminuição do número de linfócitos ativados após tratamento. Quanto ao perfil CD4+/CD8+, o padrão inicial pode ser atribuído à resposta imune gerada em resposta ao processo tumoral do paciente e/ou agentes infecciosos virais latentes implicados direta e indiretamente na fisiopatologia da DRD. A intensificação do perfil após tratamento pode estar relacionada às reações adversas tóxicas da 2CdA (depressão prolongada da contagem de linfócitos CD4+ e supressão temporária de linfócitos CD8+ com recuperação três-12 meses após o tratamento). A DRD tem etiologia incerta, com especulações acerca de alterações imunes relacionadas a agentes infecciosos como vírus varicela zoster, CMV, HSV-6, EBV, *Brucella* ssp e *Klebsiella* ssp. **Conclusão:** Neste caso, o predomínio de linfócitos T CD8+ e NKT e o fenótipo ativado poderiam também correlacionar-se com *drive* viral intrínseco, não definido na patogenia da DRD. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), UFTM, Fundação Hemominas.

164. CIRCULATING HIGHER LEVELS OF PLATELET MICROPARTICLES ARE ASSOCIATED WITH LIPIDIC, OXIDATIVE, AND INFLAMMATORY PROFILES IN ALZHEIMER'S DISEASE

Campos FMF^a, Gonçalves GS^a, Duarte RCF^a, Sousa LP^a, Teixeira AL^b, Faria MC^a, Filho OAM^c, Bicalho MAC^b, Silveira JN^a, Carvalho MDG^a

^a Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

^b Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

^c Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Belo Horizonte, MG, Brazil

Microparticles (MPs) are membrane fragments that are released during cellular activation and apoptosis. An increase in platelet MPs (PMPs) has

been observed in patients with higher platelet activation, such as Alzheimer's disease (AD) patients, a condition favored by endothelial damage. This study evaluated the levels of PMPs in patients with AD and in individuals with no cognitive impairment, and whether the levels of PMPs are associated with abnormalities in the lipidic and oxidative profiles. PMPs were determined in the plasma of 81 elderly subjects. PMP phenotype was analyzed by flow cytometry using the classical PMP marker, annexin, and fluorochrome-labeled monoclonal antibodies against platelet surface proteins. The percentages of annexin V+ MPs stained for platelet cell marker were compared between samples from AD patients and the control group; no difference was observed. However, by using a global average as cutoff (19.5%) for identifying each individual as a low or high PMP producer, it was possible to make comparisons between high and low producers of PMPs for TC, HDLc, LDLc, apolipoproteins A and B, lipoprotein(a), TBARS, TFPI, sICAM-1, sTNFR2, Hcy, FV, in addition to apolipoprotein E polymorphism and the mini-mental. For the variables TC, HDLc, LDLc, apo A and apo B, TFPI, sICAM-1, sTNFR2, Hcy, FV, and the mini-mental, no differences were found between high and lower PMP producers. However, increased PMPs levels were observed in E4 carriers as compared to non carriers (p = 0.0448). Also, Lp(a) and TBARS levels were increased in high MPs producers compared to low producers (p = 0.0432 and 0.0442, respectively). Aiming at assessing the dynamics of interaction among PMPs, total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDLc), low-density lipoprotein (LDLc), apolipoproteins A (apo A) and B (apo B), lipoprotein(a), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), soluble tumor necrosis factor alpha receptors (sTNFR2), homocysteine (Hcy), FV, tissue factor pathway inhibitor (TFPI), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), apolipoprotein E polymorphism, and the mini-mental in AD patients and the control group, the biomarkers network was assembled based on the significant Spearman correlation indices. These data demonstrated that in AD patients, the biomarkers network presents connections of moderate to high strength, and there were significant connections with PMPs. However, the control group presented a smaller number of connections, which were mostly weak. It is relevant to note that in this group, there were no significant connections with the PMPs. In AD patients, there was a clear connection between four essential mediators of the inflammatory and hemostatic response and platelet activation, such as PMPs, sTNFR2, sICAM-1, and FV, whereas in the control group, those connections were lost. Based on these results, it appears that in AD, the relationship among different inflammatory markers and PMPs is stronger, signaling to the important role of the inflammatory response in this disease. This study describes the first attempts made in characterizing the phenotype of PMPs and its probable association with abnormalities in the lipidic and oxidative profile in older adults with and without cognitive impairment. **Funding:** FAPEMIG, CNPq.

165. LEISHMANIOSE VISCERAL COM PANCITOPENIA, ESPLENOMEGALIA E COLESTASE – DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL COM HEPATITE AUTOIMUNE E LINFÓCITOSE HEMOFAGOCÍTICA

Gouveia ME, Nucci FM, Daza LJ, Policarpo F, Oviedo CAO, Apa AG, Orlando EP, Mercante DR, Monnerat A, Praxedes MK

Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Relato do caso: F.C.P.O., masculino, 31 anos, havia seis meses mudara-se do interior do Ceará para Niterói. O paciente foi internado três meses depois, por causa de icterícia, colúria, febre vespertina de 38-38,5°C, perda de peso acentuada e fraqueza nos membros inferiores. Ao exame físico apresentava polimicroadenopatia cervical, figado a 5 cm do RCD e volumosa esplenomegalia, palpável na cicatriz umbilical. Houve piora do quadro neurológico e aparecimento de disartria, parestesia no membro superior direito, disdiadocinesia e tetrapiramidalismo. Seus exames laboratoriais mostraram pancitopenia (hemoglobina 6,9 mg/dL, leucócitos totais 500/mm³ e plaquetas 59.000/mm³), ferritina progressivamente elevada (de 5.787 a 9.630 ng/mL), aumento de bilirrubina direta (8,18 mg/dL), enzimas hepáticas aumentadas (TGO 8x LSN, TGP 4x LSN, fosfatase alcalina 7x LSN e GT 6x LSN), hipoalbuminemia (1,4 mg/dL), com TAP e PTTa levemente alterados, LDH aumentado (450 mg/dL), proteína C reativa aumentada (24,5 mg/dL), sorologias para hepatites virais e HIV negativas. Foi submetido a um aspirado e biópsia de medula óssea (ABMO) que revelaram alterações displásicas acentuadas, porém inespecíficas. TC de crânio mostrou área hipodensa em ponte, sugestiva de mielinólise pontina.

USG mostrou um padrão de hipertensão portal com fluxo hepatopetal. Investigação adicional, para hepatite autoimune (HAI), revelou FAN positivo (1/160), anti-DNAs positivo, antímúsculo liso positivo (1:20), IgG aumentada (2.250 mg/dL). Diante do aumento progressivo da ferritina, na ausência de história transfusional, associada ao quadro de pancitopenia, esplenomegalia, febre diária e hipofibrinogenemia, foi levantada a hipótese de linfo-histiocitose hemofagocítica (LHH). Um novo ABMO foi feito, no qual foram então visualizadas numerosas formas amastigotas de *Leishmania* livres e dentro de histiócitos. Foi iniciado tratamento com anfotericina B lipossomal (4 mg/kg/dia), mas uma semana após o paciente apresentou hemorragia conjuntival e celulite periorbitária unilateral, com evolução para sepse, apesar da antibioticoterapia com vancomicina e meropenem. Faleceu nove dias após o diagnóstico de leishmaniose visceral (LV). **Discussão:** A LV é uma doença endêmica no Nordeste do Brasil, com formas de evolução grave, que, se não tratadas adequadamente, apresentam letalidade de até 98%. Pode mimetizar várias doenças infecciosas, neoplásicas e autoimunes. Após o primeiro exame de medula óssea, que afastou as hipóteses iniciais de leishmaniose, tricoleucemia, mielofibrose e linfomas, a principal hipótese diagnóstica, sugerida pela positividade de vários autoanticorpos, foi de HAI, complicada com LHH secundária. O segundo exame da medula óssea comprovou tratar-se de Calazar, possivelmente, associado a LHH. Estudos mostram que o primeiro aspirado de medula óssea falha em demonstrar os amastigotas de *Leishmania* em até 36,3% dos casos. **Conclusão:** Destacamos a necessidade de insistir na possibilidade do diagnóstico da LV nos pacientes com forte suspeita clínica, provenientes de área endêmica, que apresentem pancitopenia e hepatoesplenomegalia volumosas.

166. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO ANALISADOR HEMATOLÓGICO CELL-DYN RUBY BASEADA EM IMPACTO NA DECISÃO MÉDICA POR MEIO DE MÉTRICA SIGMA

Negri JL, Berlitz FA, Muniz JP, Muller KG

Ghanem Laboratório Clínico, Joinville, SC, Brasil

Introdução: Nos últimos anos houve grande desenvolvimento tecnológico na indústria de analisadores hematológicos. Na implementação de um novo analisador em sua rotina, é de extrema importância que os laboratórios clínicos executem o procedimento de validação de desempenho analítico, para garantir que a qualidade do processo seja assegurada e não impactar na decisão médica a partir dos resultados obtidos com a nova metodologia. **Objetivo:** Avaliar o analisador hematológico Cell Dyn Ruby por meio da comparação dos resultados obtidos com o sistema analítico Cell Dyn 3500, equipamento referência em nossa rotina. Analisar os resultados da validação analítica frente às especificações da qualidade, baseadas em modelos cientificamente validados, com o uso da métrica-sigma para avaliar o impacto na decisão médica. **Material e métodos:** Para avaliar a imprecisão (erro randômico, ER), foram processadas 10 replicatas de uma mesma amostra no analisador Cell Dyn Ruby. Para a avaliação de inexatidão (erro sistemático, ES), foi feita a comparação dos métodos com 40 amostras de sangue total (EDTA), as quais foram processadas nos equipamentos Cell Dyn Ruby e Cell Dyn 3500. Os estudos de replicação e comparação de métodos foram feitos conforme protocolos EP5 e EP9 do CLSI, respectivamente. Para avaliar o impacto sobre decisão médica foi feita a avaliação do erro total baseado em variação biológica e avaliação de desempenho com uso de métrica sigma. **Resultados:** A imprecisão foi considerada aceitável para os parâmetros avaliados, com ER% de 1,56%, 0,74%, 0,75%, 0,60% e 2,01% para leucócitos (WBC), hemácias (RBC), hemoglobina (HGB), volume corpuscular médio (VCM) e plaquetas (PLT), respectivamente. Os ES foram calculados para dois níveis de decisão médica, para cada parâmetro hematológico. O nível de decisão médica 1 (NDM1) foi definido como 2×10^3 células/ μ L, $3,90 \times 10^6$ células/ μ L, 11 g/dL, 80 fL e 140×10^3 células/ μ L para WBC, RBC, HGB, VCM e PLT, respectivamente. Já o NDM2 foi definido em 30×10^3 células/ μ L, 6×10^6 células/ μ L, 17 g/dL, 100 fL e 1.000×10^3 células/ μ L para WBC, RBC, HGB, VCM e PLT, respectivamente. Os ES obtidos para o NDM1 foram: 8,30%, 0,47%, 2,49%, 0,18% e 8,93% para WBC, RBC, HGB, VCM e PLT, respectivamente. Já para o NDM2, os ES obtidos para os parâmetros WBC, RBC, HGB, VCM e PLT foram: 0,91%, 2,88%, 0,40%, 0,89% e 3,10%, respectivamente. Os erros totais dos parâmetros avaliados no Cell Dyn Ruby foram inferiores às especificações baseadas em variação biológica. Na comparação com o Cell Dyn 3500, os resultados do Cell Dyn Ruby demonstraram adequada correlação ($r^2 > \text{ou} = 0,94$) para a maioria dos parâmetros, exceto VCM ($r^2 = 0,88$). As métricas sigmas foram estimadas em 4,60, 5,34, 2,25, 3,72 e 2,23

para WBC, RBC, HGB, VCM e PLT, no NDM1, e 9,33, 2,07, 5,03, 2,54 e 5,13 no NDM2. **Conclusão:** Os valores de métrica sigma inferiores a 3, tais como para os parâmetros hemoglobina e plaquetas no NDM1 e para RBC e VCM no NDM2, sinalizam a necessidade de planejamento acurado nas estratégias de controle interno. Concluímos que o equipamento Cell Dyn Ruby fornece resultados adequados frente às especificações da literatura e ao equipamento referência Cell Dyn 3500 e a implantação do novo sistema em nossa rotina irá atender plenamente os requisitos de qualidade para a adequada tomada de decisão médica.

167. AVALIAÇÃO DOS HEMOGRAMAS DE PACIENTES COM O DIAGNÓSTICO DE INFLUENZA A H1N1

Schwinden BC^a, Hygidio DA^a, Marques TF^a, Freitas PF^a, Baldessar MZ^{a,b}

^a Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Tubarão, SC, Brasil

^b Hospital Nossa Senhora da Conceição, Tubarão, SC, Brasil

Objetivo: Avaliar os hemogramas dos pacientes com o diagnóstico de influenza A H1N1. **Material e métodos:** Estudo observacional analítico, do tipo caso-controle, pareado. Os casos foram os pacientes admitidos no Hospital Nossa Senhora da Conceição de Tubarão, de 2009 a 2012, com diagnóstico laboratorial de influenza H1N1, por meio do RT-PCR e hemograma da data da suspeita clínica. Os controles foram os pacientes com o diagnóstico laboratorial negativo de H1N1 e que tinham hemograma. Foram pareados com uma relação caso/controle de 1:1 conforme sexo e idade (intervalos de -1 a +1 ano) escolhidos aleatoriamente. Coletaram-se os dados a partir das fichas físicas de notificação compulsória do Sistema de Informação de Agravos de Notificação e armazenados na instituição. **Resultados:** Foram notificadas 486 pessoas, mas 148 foram excluídas por não se enquadrar nos critérios recomendados pelo Ministério de Saúde para o exame diagnóstico, 249 obtiveram resultado negativo e 27, com resultado positivo, não fizeram hemograma. Total: 62. A maioria dos casos era da etnia branca; morador de área urbana; em idade produtiva; desconhecia contato prévio com doentes; não se deslocou para outra localidade; não trabalhava na área da saúde; a maior parte adoeceu nos meses frios, com pico em 2009. Constatou-se uma maior procura ao hospital em até quatro dias do aparecimento de sinais e sintomas. Os mais prevalentes eram febre, tosse e dispneia. Entre as alterações no hemograma, nenhuma se mostrou significativa e entre as variáveis clínicas, apenas gestação obteve significância ($p = 0,02$). **Conclusão:** Ainda que várias alterações hematológicas possam ser encontradas, não se deve usar o hemograma para fins diagnósticos de influenza A H1N1 e deve-se considerar a gestação como um fator de risco independente para infecção.

168. SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICA: UMA MANIFESTAÇÃO GRAVE DE LEISHMANIOSE VISCERAL

Barbosa MS, Farias DLC, Tavares RS, Amaral CAD, Kluthcouski FSM, Inacio PP, Nahas LC, Barbosa ADP, Bastos FA, Nascimento GR

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: A síndrome hemofagocítica (SHF) é uma entidade associada com formas familiares e adquiridas. As formas adquiridas podem ser desencadeadas por infecções, neoplasias, imunodeficiências e doenças reumáticas. A apresentação clínica é geralmente dramática, com evolução aguda, febre persistente, hepatoesplenomegalia, linfadenomegalia, graus variáveis de pancitopenia e de falência de múltiplos órgãos. A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose caracterizada por infecção crônica e envolvimento sistêmico. Se não tratada, evolui de modo fatal na maioria dos casos. O período de incubação varia de 10 dias a mais de um ano. Os sintomas mais comuns são febre, mal-estar, calafrios, perda de peso, anorexia e desconforto no hipocôndrio esquerdo. Os sinais clínicos mais comuns são esplenomegalia, com ou sem hepatomegalia, e palidez de mucosas. **Objetivo:** Descrever o quadro clínico, a propedêutica e os tratamentos instituídos a paciente com SHF secundária a LV. **Relato de caso:** J.S.P., 38 anos, com quadro persistente de febre intermitente e calafrios, acompanhado de astenia, hiporexia e dispneia. Evoluiu com hepatoesplenomegalia volumosa e pancitopenia grave e hiperferritinemia. Avaliação medular seriada mostrou somente hemofagocitose, sem causa definida. Refratário ao tratamento com corticoide, imunoglobulina e ciclosporina. Tratado com esquema HLH-94 (ciclosporina-etoposídeo-dexametasona) com recuperação clínica e laboratorial por quatro meses, mas com posterior reinício de pancitopenia. Novo mielograma mostrou presença de amastigotas intracelulares e extracelulares

res. Iniciado tratamento para LV, com resolução do quadro. **Discussão:** A urbanização da LV tem sido relacionada a modificações ambientais causadas por ações antrópicas. O controle vetorial e de reservatórios representa os maiores desafios para o controle da doença. No Brasil, estimam-se 4.200 a 6.300 casos anuais. Diferentes técnicas podem ser usadas para o diagnóstico. No entanto, nenhuma apresenta 100% de sensibilidade e especificidade. O diagnóstico é rotineiramente presuntivo, com base em parâmetros clínicos e epidemiológicos. Entretanto, um diagnóstico definitivo requer a demonstração do parasita. A SHF deve participar do diagnóstico diferencial de paciente com febre persistente, adenomegalias generalizadas e pancitopenia. Entre as formas de SHF estão as primárias e secundárias. A forma secundária é a mais frequentemente observada em adultos, porém pouco diagnosticada. A procura da etiologia deve ser ampla e exaustiva para melhor compreensão da entidade e de suas complicações, bem como para a instituição da terapêutica apropriada com a finalidade de reduzir seu potencial de letalidade. Os corticoides são fundamentais no tratamento. São citotóxicos e inibem a expressão de citocinas. A administração de omunoglobulina isolada ou em combinação com outras modalidades de tratamento tem sido descrita e a eficácia é variável. Ciclosporina A afeta a ativação linfocitária, a função dos macrófagos e as células dendríticas. O uso de etoposídeo foi estabelecido como terapia de primeira linha no contexto do protocolo HLH-94. **Conclusão:** Em muitas situações, a causa não é evidenciada e o tratamento empírico deve ser iniciado precocemente, incluindo agentes citotóxicos, imunossuppressores, imunoterapia e quimioterapia, além de terapia antiviral, antifúngica e antibacteriana de amplo espectro.

169. ANÁLISE DOS PARÂMETROS HEMATÓLOGICOS E BIOQUÍMICOS E PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES INTOXICADOS PELA ARANHA LOXOSCELES

Arruda ABL^a, Timbó IM^a, Souza IP^a, Lemes RPG^a, Arruda AAL^a, Moura CF^a, Mateus CS^a, Machado CMG^a, Lima AB^b, Ferreira CMS^a, Lima AIH^c

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

^b Prefeitura Municipal de Fortaleza, Fortaleza, CE, Brasil

^c Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: As aranhas do gênero *Loxosceles* são responsáveis por muitos acidentes no Brasil a cada ano. O Ceará é o 13º estado em número de casos notificados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan). A picada das aranhas *Loxosceles* pode causar uma síndrome necrotizante-hemolítica conhecida como loxoscelismo. Em casos extremos, os acidentes com essas aranhas podem levar ao óbito, por causa de sua ação sistêmica. Apesar da grande importância para a saúde pública, pouco se sabe a respeito dos casos de acidentes loxoscelícos no Ceará. **Objetivo:** Determinar o perfil epidemiológico e avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos em pacientes vítimas de picada de aranha marrom. **Material e métodos:** Estudo observacional, retrospectivo, descritivo analítico. A pesquisa foi feita com base nos registros de acidentes notificados no Centro de Assistência Toxicológica (Ceatox), no Hospital de Urgência e Emergência Instituto Dr. José Frota, em Fortaleza, de 2009 a 2013. **Resultados:** Dos 35 casos documentados no período, 48,62% ocorreram de abril a junho, com 68,5% na zona urbana e 88% nas residências. Em relação às vítimas, 65,7% foram mulheres, predominantemente entre 30 e 44 anos (28,8%). Com relação ao local da picada, 57,35% atingiram o membro inferior da vítima. Os principais sintomas foram eritema e necrose (45,7% cada um), dor local (42,90%), bolha necrótica (31,40%) e edema (28,60%). Na maior parte dos casos, os pacientes procuraram atendimento médico quatro horas após a picada (42,90%). O loxocelismo cutâneo representou 97,14% dos casos e o loxocelismo sistêmico, 2,85%. O quadro de envenenamento moderado predominante atingiu 74,3% dos envenenados. Com relação aos exames laboratoriais, apenas 57,1% dos pacientes fizeram o hemograma. Nesse exame, as alterações mais presentes foram a leucocitose e a diminuição de hematócrito. A leucocitose com neutrofilia esteve presente em 60% e o hematócrito diminuído em 72% dos casos. Já o número de hemácias e plaquetas e as dosagens de hemoglobina, ureia e creatinina estavam normais na maioria dos casos. **Conclusão:** A análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos foi dificultada pela falta de informações completas sobre os exames laboratoriais nas fichas de notificação dos pacientes envenenados, porém, os resultados observados foram semelhantes aos encontrados na literatura pesquisada.

170. NEUTROPENIA INDUZIDA POR DROGAS – RELATO DE CASO

Neves MCA, Chalup MMBS, Torga JP, Souza SM, Campos CM, Silva PCL, Hugo CPC, Almeida JM, Rocha SFG

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A neutropenia induzida por drogas baseia-se no aparecimento durante o uso ou após a exposição a medicamentos. Ocorre predominantemente em pacientes do sexo feminino e de faixa etária mais elevada. Ocorre por diversos mecanismos. O tempo de neutropenia é variável. O tratamento visa à identificação e suspensão imediata da droga. É necessário o uso de estimulador da colônia de granulócitos (G-CSF) em alguns casos. **Objetivo:** Relatar a importância desse raro, porém relevante, diagnóstico diferencial nos pacientes que se apresentam com neutropenia. **Relato de caso:** C.C.N.S., 26 anos, sexo feminino, residente em Belo Horizonte, previamente hígida, com história progressiva de toxoplasmose ocular gestacional em 2006, com tratamento à ocasião (SIC) e acompanhamento anual com oftalmologista, referiu início havia cerca de dois meses de redução da acuidade visual à esquerda. Foi diagnosticada reativação da patologia pelo especialista e iniciado tratamento com prednisona, sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico (início em 11/06/2014). Apresentou hemograma desse período com contagem de neutrófilos normal (hemograma 02/07/2014: Hb: 12,5, Gl: 5070, N: 2.549, Linf: 1.409, Plq: 160.000). Informa ocorrência em 21/07/2014 de febre, vômitos e sintomas respiratórios. Procurou atendimento médico à ocasião e foi prescrita azitromicina VO. Persistiu sintomática em domicílio. Procurou novamente avaliação médica e foi verificada neutropenia grave (hemograma 23/07/14: Gl: 489, N: 24). Encaminhada ao HC em 25/07/2014, apresentou à admissão ausência de visceromegalias ou linfonodomegalias palpáveis, manteve picos febris e queixas respiratórias, foi confirmada neutropenia grave em lâmina de sangue periférico, com início de terapia antimicrobiana de largo espectro. Colhido mielograma (26/07/2014), que evidenciou aplasia da série granulocítica. Sorologia para HIV, EBV, CMV e hepatites A, B e C negativas. Iniciado estimulante da colônia de granulócitos (granulokine® 300 mcg/dia), ácido folínico 15 mg/dia e suspenso tratamento para toxoplasmose ocular. Após instituição dessas medidas, a paciente vem evoluindo satisfatoriamente, com ascensão da contagem neutrofilica. **Discussão:** A real incidência da neutropenia induzida por drogas é desconhecida, em virtude da sua baixa notificação. Na maioria das vezes, apenas os casos graves são relatados. Apesar dessa subnotificação, estima-se que a neutropenia induzida por drogas seja a segunda causa mais frequente de neutropenia. A definição etiológica é importante, visto que o tratamento baseia-se na suspensão da droga desencadeadora da patologia. **Conclusão:** A neutropenia induzida por drogas é rara, porém, sua ocorrência pode acarretar graves problemas aos pacientes. Deve sempre ser diagnóstico diferencial com outras causas de neutropenia.

171. ATIVIDADE DE ECTOENZIMAS DO SISTEMA PURINÉRGICO EM PLAQUETAS DE PACIENTES HIV+ SOB USO DE TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

Sequeira M, Rezer JFP, Thorstenberg MLP, Ruchel JB, Souza VDCG, Bertoldo TMD, Leal DBR

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

Introdução: Tem sido demonstrado que a infecção pelo HIV e o tratamento antirretroviral podem favorecer um estado pró-coagulante e contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A doença cardiovascular teve maior evidência durante a era da terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) e promoveu a regressão das manifestações clínicas, acompanhada da melhoria nas condições de saúde do paciente. Além dos benefícios da medicação, surgem complicações relacionadas com a toxicidade dessas drogas. **Objetivo:** Determinar a atividade de ectoenzimas em plaquetas de pacientes HIV, pois sabe-se da participação das plaquetas na resposta imune, inflamatória e na coagulação sanguínea e, ainda, que o sistema purinérgico é constituído por ectoenzimas (entre elas E-NTPDase, E-5'-nucleotidase) que têm ações na tromborregulação e na homeostasia. **Material e métodos:** Foram incluídos no estudo 20 indivíduos controle, 10 HIV e 50 HIV TARV. As amostras foram obtidas no setor de Infectologia do hospital universitário de Santa Maria. Foram coletados aproximadamente 15 mL de sangue por punção venosa. Ensaios enzimáticos em plaquetas: a atividade da E-NTPDase foi feita conforme técnica descrita por Pilla et al.

(2006), com ATP e ADP como substratos, e mensurada a liberação de fosfato inorgânico (Pi). A atividade da E-5'-nucleotidase foi feita pelo método descrito por Pilla et al. (2006), com AMP como substrato, e mensurada a Pi liberada. A atividade da E-ADA foi feita pelo método de Giusti e Galanti (1984), com adenosina como substrato, e mensurada a liberação de amônia. Análise estatística: os dados foram compilados em programa estatístico, com a análise de variância (Anova) de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de Newman-Keuls. Os resultados foram considerados significativos com $p < 0,05$. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da UFSM. **Resultados:** Para a atividade da E-NTPDase, não houve alteração na hidrólise de ATP no grupo de controle em comparação com a HAART VIH ($p > 0,05$). Já o grupo HIV apresentou um aumento de 49% na hidrólise de ATP, quando comparado com o grupo de controle ($p < 0,0002$). Para a hidrólise de ADP foi observada uma diminuição de 39% no grupo HIV HAART, em comparação com o grupo de controle ($p < 0,05$). O grupo HIV, quando comparado com o grupo de controle, apresentou um aumento de 32% ($p < 0,05$). Para a atividade da E-5'-nucleotidase a hidrólise enzimática do AMP aumentou em 34% ($p < 0,0001$) no grupo HIV, em comparação com o grupo de controle. Entre o grupo de controle e HIV HAART não houve diferença ($p > 0,05$). A atividade da E-ADA de plaquetas mostrou uma redução de 49,63% no grupo HIV HAART em comparação com o grupo de controle. Houve uma redução de 34,83% na atividade da E-ADA quando comparado o grupo HIV com o grupo de controle ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os grupos HIV HAART e HIV ($p > 0,05$). **Conclusão:** Esses dados indicam um possível efeito cardioprotetor da adenosina extracelular durante o tratamento antirretroviral. A sinalização purinérgica por meio da atividade das ectoenzimas mostrou estar envolvida na resposta tromborregulatória dos pacientes HIV sob terapia antirretroviral.

172. IMUNODEFICIÊNCIA PRIMÁRIA MIMETIZANDO NEOPLASIA PULMONAR – RELATO DE CASO

Lee IC^a, Marcondes L^a, Pereira AA^a, Santana VB^a, Vieira DSC^a, Costa A^a, Bogoni A^a, Neto OVZ^a, Vainchenker M^b

^a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil
^b Escola Paulista de Medicina (EPM), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: As imunodeficiências primárias (IDPs) são doenças genéticas que predisõem a infecções graves e frequentes, autoimunidade e neoplasias malignas. Células NK, macrófagos e principalmente células citotóxicas estão envolvidas na destruição de células tumorais e agentes infecciosos. **Relato de caso:** J.R., sexo masculino, 25 anos, portador de deficiência de Ig combinada com imunodeficiência comum variável desde a infância e previamente esplenectomizado. Submetido a repetidas internações por quadro de pneumonia, sempre com dispneia, febre, tosse produtiva e astenia. Ao exame, apresentou sibilos e estertores. À TC, linfonomegalia em mediastino e nódulos pulmonares intersticiais difusos. Submetido a biópsias pulmonares, diante do quadro suspeito de linfoma. Entretanto, o estudo imuno-histoquímico revelou tratar-se de exuberante hiperplasia folicular/bronquite folicular. O perfil imuno-histoquímico revelou rica população linfóide de células B (cd20+, kappa+, lambda+) e linfócitos T (cd3+/cd43), poucos plasmócitos (cd138) de permeio, com arranjo folicular reacional. A pesquisa para BAAR e fungos resultou negativa. A microbiologia revelou o agente etiológico *Pneumocystis jiroveci*. **Discussão:** A estimulação inflamatória constante pode, em um hospedeiro imunodeficiente, permitir uma expansão linfóide a ponto de mimetizar neoplasias. A investigação requer participação de diferentes setores laboratoriais, tendo em vista os 60 tipos diferentes de imunodeficiência primária, bem como a avaliação da clonalidade linfocitária por citometria de fluxo, imuno-histoquímica e, ainda, a microbiologia.

173. PERFIL HEMATOLÓGICO DE AGRICULTORES DA SERRA GAÚCHA (RS)

Bordin A, Canzan C, Pertile E, Matias M, Ghidorsi J, Ribeiro Z, Rodrigues A, Dias C, Roncada C, Poeta J

Faculdade da Serra Gaúcha (FSG), Caxias do Sul, RS, Brasil

Introdução: O trabalho agrícola é considerado uma das mais perigosas ocupações na atualidade, por causa do uso desordenado de agrotóxicos. Existem diversas classes de praguicidas, baseadas nos padrões de uso e no tipo de praga a ser controlada ou destruída. Essas substâncias, ampla-

mente usadas no mundo, são responsáveis por inúmeros casos de intoxicações agudas que ocupam a terceira posição dentre os agentes causadores, a maioria por inseticidas (73%), raticidas (15,3%) e herbicidas (9,7%). O Brasil é líder mundial no consumo de agrotóxicos. Apesar das inúmeras pesquisas sobre o impacto do uso dessas substâncias sobre a saúde humana, ainda são insuficientes para conhecer a extensão da carga química de exposição ocupacional e a dimensão dos danos à saúde. Há uma enorme dificuldade para diagnosticar, registrar e até mesmo encaminhar pacientes intoxicados por agrotóxicos. Segundo a Organização Mundial da Saúde, para cada caso de intoxicação há 50 não notificados. O hemograma é um coadjuvante indispensável no diagnóstico e no monitoramento de doenças infecciosas agudas ou crônicas, neoplasias, tratamentos, intoxicações por substâncias químicas, entre outros. **Objetivo:** Avaliar o perfil hematológico de agricultores da Serra Gaúcha (RS). **Material e métodos:** Participaram desse estudo 521 agricultores, de março a julho de 2014. O nível de conhecimento dos agricultores em relação aos agrotóxicos foi analisado por meio da aplicação de questionário. Para serem incluídos no estudo, os participantes tinham de ser trabalhadores da área rural, usuários de agrotóxicos e assinar o termo de consentimento. Para a determinação do perfil hematológico, foram feitas coletas de sangue total com EDTA, processadas em um analisador automático por citometria de fluxo (Sysmex XS-800i) no Laboratório de Biomedicina da FSG. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Círculo/FSG Caxias do Sul. **Resultados:** A média de idade dos participantes foi de $41,8 \pm 13,5$ anos, 70% homens. Desses, 62,6% têm ensino fundamental incompleto e trabalham na lavoura desde os 10 ou 12 anos (39,8%). Podemos dizer ainda que 94,3% armazenam os agrotóxicos em locais separados da casa. Quanto ao equipamento de proteção individual, 35,8% o usam completo, 31,7% incompleto, 18,1% às vezes e incompleto e 11,6% não usam. Quando falamos em média de horas diárias na aplicação de agrotóxicos, 57,6% gastam entre uma e duas horas e 86,5% preparam e aplicam os agrotóxicos. Os fungicidas são o tipo mais usado por essa população (67,4%). Quando perguntados sobre principais sintomas já sentidos e a periodicidade de exames: 52,1% dor de cabeça/tonturas e 13% visão turva; 70,8% fazem exames periodicamente. Na análise da hematologia: RBC $5,07 \pm 0,38 \times 10^6/\mu\text{L}$; Hb $15,8 \pm 0,68$ g/dL; Hct $45,4 \pm 2,91\%$; VCM $89 \pm 3\mu\text{m}^3$; HCM $30,8 \pm 3,1\text{pg}$; CHCM $34,2 \pm 0,84$ g/dL, plaquetas $221.000 \pm 48/\text{mm}^3$; RDW $12,9 \pm 0,7\%$; WBC $6.840 \pm 170/\text{mm}^3$. O diferencial é composto de neutrófilos, com $54,3 \pm 8\%$, linfócitos, com $32,4 \pm 7,4\%$, monócitos, com $9,4 \pm 2\%$, eosinófilos, com $3,1 \pm 2,7\%$, e basófilos, com $0,5 \pm 0,02\%$. **Conclusão:** Apesar de a média dos parâmetros hematológicos avaliados estar dentro dos valores de normalidade, se julga necessária a feita periódica de exames laboratoriais para monitoramento da saúde de agricultores expostos a agrotóxicos.

174. SEPSE E CHOQUE SÉPTICO: UMA METANÁLISE DE ESTUDOS DE EXPRESSÃO GÊNICA

Fiusa MML, Carvalho BS, Hubert RME, Souza W, Lopes-Gendes I, Annichino-Bizzacchi JM, Paula EV

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

Introdução: A sepsé é caracterizada por uma complexa resposta inflamatória a uma infecção. Estudos de expressão gênica, baseados em *microarrays*, têm demonstrado que essa resposta pode afetar mais de 80% das funções e vias celulares, em um fenômeno conhecido como “tempestade genômica”. Durante muitos anos a sepsé foi considerada como uma condição pró-inflamatória, e esse conceito resultou em várias estratégias de tratamento experimental visando a bloquear a inflamação. No entanto, o fracasso dessas terapias e evidências recentes demonstram que as vias anti-inflamatórias também são ativadas durante a sepsé, o que ilustra a complexidade de sua patogênese. Na última década, estudos de expressão gênica baseados em *microarrays* têm sido usados na tentativa de melhorar a compreensão sobre a sepsé. Os dados brutos desses estudos estão depositados em arquivos públicos e oferecem, assim, uma oportunidade única de combinar informações a partir de diferentes estudos. Porém, nenhuma metanálise desses estudos foi feita. **Objetivo:** Fazer uma metanálise de estudos de expressão gênica na sepsé grave e no choque séptico humanos a fim de identificar genes e vias associadas à patogênese da sepsé de uma forma substancial. **Material e métodos:** Os dados de *microarray* foram obtidos por meio de pesquisa em dois bancos de dados públicos (Gene Expression Omnibus e Array-Express) com os seguintes critérios: “sepsé” ou “choque séptico” e “sangue periférico” ou “leucócitos” e “homo sapiens”. Os dados foram pré-processados no am-

biente R/BioConductor com o algoritmo Robust Multi-array Average (RMA). A metanálise foi feita com o pacote RankProd. Para este estudo, foram selecionados genes com fold-change acima de 2 e taxa de falsa descoberta (FDR) abaixo de 0,01, calculada com base em 10.000 permutações. A análise do conjunto de genes diferencialmente expressos (DE) foi feita com a ferramenta online WebGestalt e, posteriormente, confirmada com ferramentas similares (KEGG, PathwayCommons, WikiPathways). Somente as vias identificadas por mais de uma ferramenta foram consideradas. **Resultados:** Foram identificados 45 estudos, dos quais cinco preencheram os critérios de inclusão. Nossa metanálise incluiu dados de 259 pacientes e 132 controles. Entre as 22.216 sondas de expressão gênica, observaram-se 352 genes DE, 215 dos quais foram superexpressos e 137 regulados negativamente. Os cinco genes mais superexpressos foram CD177, MMP8, HP, ARG1 e ANXA3 e os cinco genes regulados negativamente foram FCER1A, YME1L1, TRDV3, LRRN3 e MYBL1. O termo com maior significância estatística na análise ontológica foi “resposta imunológica” (adjP = 2,85e-27) e as vias mais significativas foram “linhagem de células hematopoiéticas” (adjP = 8,69e-13), “sinalização da via TCR” (adjP = 3,04e-10) e “sistema imunológico” (adjP = 1,08e-19). **Conclusão:** A análise de conjunto de dados resultantes de experimentos de expressão gênica baseados em *microarrays* é uma estratégia atrativa para melhorar a sensibilidade e especificidade dos dados de expressão gênica de estudos individuais. Esta metanálise fornece uma lista abrangente de genes, vias e assinaturas de expressão associados à sepse grave e ao choque séptico e confirma resultados de estudos individuais. Além disso, oferece novas informações biológicas sobre a sepse e lista potenciais genes candidatos com associações substanciais nesse contexto.

175. CONTAGEM DE BASTONETES: DEFININDO CRITÉRIOS DE IDENTIFICAÇÃO

Spezia J, Hermann PB, Hauser AB, Comar SR, Silva PH, Henneberg R, Leonart MSS, Nascimento AJD

Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Introdução: O uso da contagem de bastonetes é tema de várias discussões na literatura, por ser uma análise que apresenta diversas interpretações clínicas e técnicas. Embora os critérios de classificação morfológica estejam definidos, existe uma grande dificuldade dos microscopistas de interpretar os critérios que descrevem os bastonetes. Não há um consenso sobre as definições documentadas. **Material e métodos:** Foi feita a análise de 100 imagens fotográficas de neutrófilos que poderiam ser segmentados ou bastonetes. As imagens foram selecionadas aleatoriamente e enviadas a sete profissionais experientes, com no mínimo quatro anos de atividade na área de Hematologia. Após essa etapa, foi definido pelos participantes do estudo um critério único para identificação de bastonetes e segmentados e, após essa padronização, nova contagem foi feita. Os critérios definidos foram: segmentado – núcleo lobulado com um filamento de cromatina unindo os lóbulos ou com uma constricção menor do que 2/3 da parte mais larga do núcleo, podendo ser dobrado ou sobreposto; bastonete – núcleo em forma de S, C, U ou mesmo lobulado, desde que a constricção tenha uma espessura maior do que 2/3 da parte mais larga do núcleo. O comparativo dos resultados antes e depois da definição do critério foi obtido com o teste de correlação intraclass (Intraclass Correlation Coefficients [ICC]) com o pacote estatístico da Hong Kong University. **Resultados:** Na avaliação feita pelos observadores antes da padronização, na contagem diferencial de 100 neutrófilos obteve-se o valor de ICC de 0,818, enquanto na avaliação após a padronização esse índice praticamente permaneceu o mesmo (ICC=0,823) e mostrou uma excelente correlação. Antes da definição dos critérios de identificação, 29 células foram identificadas de maneira idêntica entre os participantes (100% de concordância). Foram 23 bastonetes e seis segmentados. Houve concordância superior a 80% entre os observadores para 66 células, 46 bastonetes e 20 segmentados. Nas 44 células restantes houve concordância menor do que 80%. Após a definição dos critérios, houve concordância de 100% entre os observadores para 46 neutrófilos, dois bastonetes e 44 segmentados, e concordância de > 80% entre os observadores para 70 neutrófilos, 17 bastonetes e 53 segmentados. **Conclusão:** A identificação dos bastonetes é um processo subjetivo e dependente da acuidade e experiência individual de cada microscopista, o que leva a grandes discrepâncias nos resultados liberados pelos laboratórios. Os resultados do presente estudo antes e depois da definição morfológica apresentaram uma melhoria significativa na concordância entre os observadores. O uso da contagem dos bastonetes na rotina clínica é controverso por diversos

fatores. Um dos mais relevantes é a falta de padronização dos critérios morfológicos de identificação da célula. Dessa forma, o estudo ressalta a importância de estabelecer critérios bem definidos, para melhor uso clínico das contagens diferenciais.

176. LEUCEMIA DE CÉLULAS PILOSAS: EXPERIÊNCIA CLÍNICA EM UM HOSPITAL ESCOLA NO NORDESTE DO BRASIL

Rilhas GP, Correia MCB, Inojosa AC, Correia CWB, Costa MFH, Brandao R, Koury J

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

Introdução: A leucemia de células pilosas, ou tricoleucemia (HCL – hairy cell leukemia), é uma desordem linfoproliferativa crônica indolente de células B. A doença é responsável por 2% das leucemias. A HCL é caracterizada clinicamente por esplenomegalia e laboratorialmente por pancitopenia e achado de células neoplásicas com projeções citoplasmáticas. O tratamento consiste no uso de análogos da purina. A cladribina (2-CDA) tem sido usada como tratamento de escolha por causa das altas taxas de remissão (91%) obtidas com apenas um ciclo da terapia. **Material e métodos:** Estudo observacional descritivo retrospectivo tipo série de casos feito com 14 pacientes diagnosticados com leucemia de células pilosas e acompanhados no ambulatório de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFPE de novembro de 2005 a junho de 2014. **Resultados:** A média de idade foi de 52 anos, com extremos de 29 e 75, o que corrobora a média de idade descrita pela literatura mundial. Dos 14 prontuários analisados, 12 (85,7%) eram indivíduos do sexo masculino e apenas dois (14,3%) do feminino. Aproximadamente 90% dos pacientes apresentavam esplenomegalia ao diagnóstico, linfonomegalia em 37,2% e hepatomegalia em 28,6% dos casos. A maioria dos pacientes apresentou sintomas relacionados com leucopenia, anemia e plaquetopenia (42,8% com infecções e 37,2% com febre). **Discussão:** Todos os pacientes apresentavam a forma clássica da doença. A quase totalidade apresentou esplenomegalia no momento do diagnóstico. Os dados da literatura referem também altas taxas de prevalência para esplenomegalia, embora menores do que a encontrada neste estudo. A infecção foi a complicação mais frequente encontrada durante e após o diagnóstico. Dados da literatura demonstram aumento do risco de infecção para os pacientes com leucemia de células pilosas, principalmente no primeiro ano após o diagnóstico. Neste estudo, todos os pacientes foram tratados com 2-CDA por um ciclo na dose padrão de 0,1 mg/kg/dia em infusão contínua por sete dias. Há relatos na literatura de taxas de resposta completa acima de 90% para os pacientes com HCL tratados com um único ciclo de 2-CDA. Entre os 14 pacientes, apenas um apresentou recaída constatada após 10 meses do tratamento inicial feito com 2-CDA e diagnosticada por meio da biópsia de medula óssea e imuno-histoquímica. Dados da literatura indicam um tempo de recaída mais prolongado do que o encontrado neste estudo. Em casos de recaída, altas taxas de resposta são evidenciadas quando usado um novo ciclo terapêutico com os análogos de purina. A sobrevida média livre de doença dos pacientes foi de 49 meses, menor do que a descrita na literatura mundial. **Conclusão:** Nesta série de casos os pacientes apresentaram resposta completa ao tratamento com 2-CDA compatível com as altas taxas de resposta descritas na literatura. Entretanto, a sobrevida média livre de doença e o tempo de recaída da doença para esses pacientes foi menor quando comparados aos dados mundiais. Conclui-se que a leucemia de células pilosas é uma doença de progressão lenta e com altas taxas de remissão completa para o paciente submetido ao tratamento com 2-CDA. Por isso, reitera-se a importância de uma abordagem precoce e tratamento do paciente para que haja uma menor incidência de complicações e mortalidade pela doença.

177. ANÁLISE DO GENE DA PERFORINA EM LINFÓCITOS CITOTÓXICOS DE PACIENTES COM LINFOMA NÃO HODGKIN

Souza BMB, Silva MV, Soldi LR, Garcia FB, Moraes-Souza H

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFMT), Uberaba, MG, Brasil

Introdução: A perforina é uma proteína formadora de poros presente em linfócitos citotóxicos que é fundamental para a função da resposta imune contra células infectadas por patógenos intracelulares e para a imunovigilância contra células transformadas. Assim, modificações na sua composição podem levar à imunodeficiência e aumentar o risco de desenvolvimento de neoplasias. **Objetivo:** Sequenciar os éxons 2 e 3 do gene que codifica

perforina (PRF1) e quantificar a proteína perforina presente nos grânulos citoplasmáticos de células NK (CD3-CD56+) e CTLs (CD3+CD8+) de pacientes com linfoma não Hodgkin (LNH) por citometria de fluxo. **Material e métodos:** A amostra foi composta por 24 pacientes com LNH e por 56 indivíduos saudáveis. **Resultados:** Nos pacientes com LNH foi encontrado o SNP sinônimo, A240T (Leu80Leu) no éxon 2, em uma frequência alélica de 2% (n = 1). Em indivíduos saudáveis, essa alteração não foi encontrada. No éxon 3 foi identificada a alteração sinônima C822T (Ala274Ala), com uma frequência alélica de 20,8% nos pacientes com LNH e 10,7% em indivíduos saudáveis. A análise estatística pelo teste exato de Fisher não demonstrou diferença entre os grupos para ambos os polimorfismos (p = 0,3 e p = 0,13, respectivamente). A quantificação de perforina foi feita em cinco pacientes. Entre eles, apenas um era portador de polimorfismo no gene PRF1, a alteração sinônima C822T (Ala274Ala). No entanto, não foram encontradas variações nos parâmetros analisados na comparação com os demais pacientes. A quantidade de CTLs dos pacientes (mínimo de 15,4% e máximo de 28,6%) não foi diferente dos parâmetros estabelecidos de normalidade para indivíduos saudáveis (12,8% a 40,2%). Já a porcentagem de células NK de alguns pacientes foi superior aos valores normais (3,7% a 28,5%), variação de 10,2% a 46,6%. Essa alteração já era esperada, visto que são indivíduos com neoplasia hematológica que desencadeia uma resposta imune mediada por esse tipo celular. Em geral, a porcentagem de células NK que expressam perforina (CD56+PRF+) foi maior do que a de CTLs (CD8+PRF+). A quantidade de perforina expressa por célula nas células NK foi maior comparada com os CTLs. Interessantemente, o paciente que apresentou menor número de células NK (P06) e o menor número de células CD56+PRF+ foi o que apresentou a maior média de fluorescência de perforina, o que evidencia um possível mecanismo compensatório. **Conclusão:** Ao contrário do que esperávamos, não foi encontrada uma maior frequência de polimorfismos no gene PRF1 em pacientes com LNH, provavelmente por causa do reduzido número de indivíduos analisados. Um estudo mais aprofundado da resposta imune desses pacientes, incluindo análise de citocinas e outros polimorfismos em genes relacionados à expressão da perforina, poderia contribuir para um melhor entendimento do papel da resposta imune celular nessa enfermidade. **Financiamento:** UFTM, Fundação Hemominas, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

178. INFILTRAÇÃO DE MEDULA ÓSSEA POR GLIOBLASTOMA MULTIFORME – UMA RARA COMPLICAÇÃO DE TUMORES PRIMÁRIOS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Miura TES, Ferreira TZ, Takahi IY, Zacchi FFS, Goncalves MV, Chauffaille ML, Sandes AF

Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Embora a maioria dos tumores malignos tenha propensão para disseminação em outros tecidos, metástase extraneural de tumores cerebrais primários é rara e ocorre com uma incidência inferior a 2%. Essa baixa incidência pode ser explicada pela baixa sobrevida dos pacientes e por motivos intrínsecos do sistema nervoso central, como a barreira hematoencefálica e a ausência de vasos linfáticos. No glioblastoma multiforme, o subtipo mais frequente e agressivo, os locais de metástase mais comuns são os ossos, os linfonodos, o pulmão e o fígado. A medula óssea é acometida em menos de 5% dos casos metastáticos. **Objetivo:** Relatar um caso de infiltração medular de paciente acometido por glioblastoma multiforme. **Relato de caso:** Paciente de 28 anos, sexo masculino, foi diagnosticado com glioblastoma multiforme com componente oligodendroglial em 2009 e evoluiu com recidivas frequentes durante o tratamento. Seis anos após o diagnóstico, apresentou quadro de alucinações e foi internado para investigação. Os exames laboratoriais demonstraram a presença de plaquetopenia leve (90.000/mm³) e desvio à esquerda da série neutrofílica, associada a aumento importante de DHL (4.100 U/L). O mielograma era hiperplasmático com presença de numerosos grupamentos de células pleomórficas, com citoplasma basofílico, membrana nuclear irregular e cromatina fina e reticulada, frequentemente formando sincícios, o que caracteriza a presença de metástase por neoplasia não hematopoética. Raros elementos das séries eritrócítica e granulocítica estavam presentes e não foram visualizados megacariócitos na amostra. **Discussão:** Metástases de tumores primários do sistema nervoso central podem ocorrer por meio de disseminação local, hematogênica, linfática e mais raramente via líquido cefalorraquidiano em pacientes com derivação ventrículo-peritoneal. Infiltração medular provavelmente ocorre após disseminação hematogênica e é mais frequente em pacientes com ressecção cirúrgica prévia, embora também

possa ocorrer por invasão vascular do tumor. **Conclusão:** Apesar de esse tipo de metástase ser extremamente raro, pacientes com glioblastoma multiforme e outros tipos de tumores cerebrais que apresentem citopenias inexplicadas em sangue periférico devem ser submetidos à análise da medula óssea para investigação de infiltração medular.

179. INFILTRAÇÃO MEDULAR POR ANGIOSSARCOMA

Ferreira TZ, Miura TES, Takahi IY, Volani LM, Sandes AF, Goncalves MV, Chauffaille ML, Zacchi FFS

Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Os angiossarcomas são neoplasias de origem vascular malignas, raras e agressivas, e com alta propensão para recidivas locais e metástases em sítios distantes. Podem surgir em qualquer tecido do corpo. Entretanto, em 60% dos casos ocorrem na pele e tecidos moles profundos. Desses, a maioria se localiza na região de cabeça e pescoço. Alguns fatores são sabidamente conhecidos para o aparecimento de angiossarcomas, como linfedema crônico de extremidades e radioterapia. Algumas toxinas ambientais também foram mencionadas como agentes etiológicos no desenvolvimento de angiossarcomas como o thorotrast (usado antigamente em angiografias), alguns inseticidas, esteroides anabolizantes e estrogênios sintéticos. **Relato de caso:** Paciente de 86 anos, do sexo feminino, internada para investigação por pancitopenia, com necessidade transfusional. Foram feitos mielograma e biópsia de medula óssea com estudos anatomopatológico e imuno-histoquímico. O mielograma evidenciou alguns grupamentos de células de grande porte que formavam sincícios, sugestivos de neoplasia não hematopoética. O estudo anatomopatológico demonstrou medula óssea hiperplasmática (100%), substituída por infiltrado de células epitelioides atípicas dispostas em grupamentos coesos, por vezes alongadas, em cerca de 40% dos elementos nucleados, que tinham de permeio pequenos espaços vasculares. No estudo imuno-histoquímico complementar observou-se imunopositividade para CD31 e fator VIII nas células neoplásicas e alto índice de proliferação celular avaliado pelo Ki67 (cerca de 30-40%), o que caracteriza uma neoplasia de origem vascular com caracteres de angiossarcoma. **Discussão:** A substituição difusa da medula óssea por neoplasias de origem mesenquimal como os sarcomas é condição rara em adultos e a presença de angiossarcoma em medula óssea é uma condição muito rara. É importante reconhecer essa apresentação pouco usual para o diagnóstico diferencial com o de outras neoplasias de origem não hematopoética que mais comumente comprometem a medula óssea. **Conclusão:** No presente caso, a análise do material de medula óssea para elucidação de um quadro de pancitopenia possibilitou a identificação de uma neoplasia não hematopoética em uma apresentação incomum, o que permitiu o tratamento e o prognóstico mais favoráveis ao paciente.

180. ROSAI-DORFMAN DISEASE – CASE REPORT

Araujo RC^a, Pires CWBC^b, Brandão RA^c, Leite LAC^d

^a Centro Universitário Maurício de Nassau, Recife, PE, Brazil

^b Departamento de Hematologia, Centro de Ciências de Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^c Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), Recife, PE, Brazil

^d Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

Rosai-Dorfman disease is a rare non-Langerhans histiocytic disorder, initially described in 1969 by Rosai and Dorfman due to sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy findings. This condition most commonly presents as a massive cervical adenopathy in children and adults up to 20 years of age. The purpose of this study was to report an atypical case of Rosai-Dorfman disease in an adult patient with cutaneous and hematological abnormalities. The case of a 48-year-old male patient is reported, who sought medical assistance complaining of a ganglion increase in the inguinal and cervical regions. The patient had left submandibular lymphadenopathy (> 2 cm) and hepatomegaly, and denied fever, weight loss, bone pain, and family history of cancer or infectious disease. Laboratory tests showed: Hgb 13.2 g/dL, WBC 6.9x10⁹/L, PLT 98.9x10⁹/L, LDH 181 U/L, albumin 4.1 g/L, glucose 96 mg/dL, urea 35 mg/dL, creatinine 0.6 mg/dL, and calcium 9.3 mg/dL. Protein electrophoresis revealed polyclonal reaction. Bone marrow biopsy exhibited hypocellularity in all hematopoietic sectors, the presence of small megakaryocytes with dysmegakaryopoiesis, and emperipolesis. Immunohistochemistry with

compatible with Rosai-Dorfman disease and presented a mixed lymphocyte population (CD20⁺ and CD3⁺). Analysis of mutation of c-KIT was negative. Rosai-Dorfman disease is an uncommon disorder in an older patient, who presented a poor prognosis. Moreover, the etiology of Rosai-Dorfman disease remains unclear, and treatment strategies can differ according to the severity or vital organ involvement. **Keywords:** Rosai-Dorfman disease; extranodal manifestation; histopathologic findings.

181. AVALIAÇÃO DE RESULTADOS DE CULTURAS EM PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA TRATADOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA ENTRE 2009 E 2013

Silva VC, D'Acampora AC, Duclós L, Fermino FA

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma doença neoplásica que acomete a medula óssea. Entre as principais complicações de seu tratamento estão as infecções. Após a quimioterapia, num período que varia de duas a quatro semanas, os pacientes estão mais suscetíveis a infecções graves, devido a aplasia causada pelos quimioterápicos. Atualmente, apesar da disponibilidade de um arsenal de antibióticos de amplo espectro, as infecções continuam sendo uma importante causa de óbito. Nesse sentido, a questão da resistência bacteriana merece destaque, pois coloca o paciente em risco pela falta de opções terapêuticas. **Objetivo:** Avaliar agentes microbiológicos e perfis de resistência das culturas de portadores de LMA entre 2009 e 2013 no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC). **Material e métodos:** Estudo descritivo retrospectivo, com dados referentes a pacientes internados no HU-UFSC para tratamento de LMA. Foram analisadas as culturas positivas, os agentes encontrados e os antibiogramas. **Resultados:** Na amostra de 21 pacientes, 14 tiveram culturas positivas. Foram isolados 13 microrganismos, num total de 30 culturas. Encontradas 15 hemoculturas positivas: duas para *Acinetobacter baumannii*, sensível apenas a gentamicina e polimixina B; quatro para *Klebsiella pneumoniae*; uma para *Staphylococcus coagulase* negativo; uma para *Enterococcus faecium*; duas para *Escherichia coli*; uma para *Staphylococcus aureus*; uma para *Enterobacter cloacae*; uma para *Stenotrophomonas maltophilia*; uma para *Serratia mercenscens*; uma para *Raoultella planticola*. Das oito uroculturas positivas encontramos: um resultado positivo para *Enterococcus faecium*, dois para *Klebsiella pneumoniae*, dois para *Escherichia coli*, um para *Enterobacter cloacae*, um para *Klebsiella oxytoca* e um para *Citrobacter freundii*. Identificamos seis culturas de catéter positiva: cinco para *Staphylococcus coagulase* negativo – três deles só sensíveis a vancomicina – e uma positiva para *Enterococcus faecium*. As culturas positivas para fungos indicaram *Candida tropicalis* sensível a fluconazol, flucitosina, voriconazol e anfotericina B. Os *Enterococcus faecium* foram sensíveis apenas a vancomicina, tanto na hemocultura como na urocultura. Em relação à resistência dos Gram negativos, em 25% deles foram identificadas bactérias sensíveis apenas aos carbapenêmicos e resistentes às cefalosporinas. **Discussão:** A frequência de positividade de microrganismos de origem bacteriana foi maior do que para fungos. Entre as bactérias, houve maior prevalência entre os Gram negativos. Em relação à resistência dos Gram positivos, em metade das culturas os microrganismos foram sensíveis apenas à vancomicina. Em relação aos Gram negativos, a alta taxa de resistência às cefalosporinas motivou a inclusão dos carbapenêmicos com opção de primeira escolha no tratamento da neutropenia febril. **Conclusão:** Evidenciamos a importância de se conhecer a microbiota de cada hospital, bem como os perfis de resistência, para que se possa indicar de maneira adequada e racional o tratamento antimicrobiano.

182. ALTERAÇÕES NOS ÍNDICES PLAQUETÁRIOS NA MALÁRIA POR PLASMODIUM VIVAX: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Moreira DG^{a,b}, Ventura AMRS^{a,b}, Sequeira CG^{a,b}, Libonati RMF^{a,c}, Chaves TSS^a, Neves FAR^a, Moreira MG^b, Leitão DS^c

^a Instituto Evandro Chagas, Belém, PA, Brasil

^b Universidade do Estado do Pará (UEPA), Belém, PA, Brasil

^c Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: A plaquetopenia constitui uma das principais alterações hematológicas na malária por *Plasmodium vivax*. É ocasionada por diversos

mecanismos concomitantes, a exemplo da destruição plaquetária mediada por anticorpos, do estresse oxidativo e de alterações na função da medula óssea. A trombocitopenia, mesmo em níveis inferiores a 50.000 plaquetas/mm³, não costuma vir acompanhada de fenômenos hemorrágicos, o que pode estar associado a um maior nível de função plaquetária. O plaquetograma auxilia na determinação do grau de atividade plaquetária pela correlação com o tamanho das plaquetas no sangue periférico por meio de índices: VPM (volume plaquetário médio), PDW (amplitude de distribuição do volume de plaquetas), PCT (volume total de plaquetas em um volume específico de sangue) e P-LCR (porcentagem de macroplaquetas). **Objetivo:** Avaliar, na literatura, o comportamento dos índices plaquetários (VPM, PDW, PCT e PLC-R) em indivíduos com malária por *Plasmodium vivax*. **Material e métodos:** Foram consultados artigos originais e de revisão em três bases de dados bibliográficas, PubMed, SciELO e LILACS, entre 2004 e 2013, com o uso dos descritores: índices plaquetários, plaquetograma, VPM, PDW, PCT, PLC-R, malária *vivax*, em inglês e português. **Resultados:** A análise dos parâmetros plaquetários, nos estudos consultados, ficou restrita ao momento do diagnóstico da infecção. O VPM e o PDW, na malária *vivax*, em diversos estudos, costumam estar elevados em resposta a alta frequência de trombocitopenia em pacientes com a infecção malárica. Estudos descrevem também a associação entre a elevação do VPM e a gravidade da trombocitopenia e do PDW com a primo-infecção. Acredita-se que a elevação do VPM seja uma resposta compensatória à redução do número absoluto de plaquetas no sangue periférico ocasionada, uma vez que plaquetas maiores são metabolicamente mais ativas e mais suscetíveis à estimulação de fatores de agregação. A elevação do PDW, caracterizado pela correlação linear com VPM, também tendo sido apontada como resultante do maior nível de ativação plaquetária. O PCT, um dos parâmetros hematológicos menos usados na prática clínica, segundo um estudo recente que avaliou o papel dos parâmetros plaquetários como marcadores para severidade da malária, apresenta valores médios reduzidos e correlação negativa com a parasitemia. A redução é explicada, sobretudo, pela trombocitopenia concomitante à patologia, uma vez que o PCT representa a medida da biomassa plaquetária. Não foram encontrados estudos que avaliem o comportamento do PLC-R na malária *vivax*, porém, estudos que demonstram a sua correlação linear com o VPM e o PDW são indicativos de que o índice possa estar aumentado na infecção malárica. **Conclusão:** Na malária *vivax*, costuma-se observar, no momento do diagnóstico da patologia, elevação do VPM e PDW e redução no PCT, enquanto que não foram encontrados resultados relativos ao PLC-R. Essas alterações dos parâmetros plaquetários podem configurar um mecanismo de evitar ou limitar possíveis quadros hemorrágicos consequentes da trombocitopenia. São necessários, no entanto, mais estudos para a compreensão e consolidação desse mecanismo e um acompanhamento das alterações dos parâmetros plaquetários durante a evolução da infecção, com o intuito de estabelecer suas bases para uso na prática clínica como fatores prognósticos e de acompanhamento ambulatorial.

183. PLASMOCITOSE MEDULAR, NEM TUDO É O QUE PARECE

Villarim CC, Zing NPC, Marques LA, Higashi F, Crusó EQ, Bortolheiro TC, Chiattone CS, Hungria VTM

Departamento de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo (FCMSCSP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Plasmocitose medular pode ter uma grande variedade de diagnósticos diferenciais, tais como: mieloma múltiplo, recuperação medular pós-quimioterapia e radioterapia, reacional a infecções crônicas ou viroses, o que pode ocasionar erros na abordagem terapêutica. O desenvolvimento de técnicas diagnósticas cada vez mais sensíveis e específicas melhorou o diagnóstico diferencial de infiltrações medulares e possibilitou distinguir entre infiltrações clonais e reativas. **Objetivo:** Relatar um caso de plasmocitose reativa, a fim de expor a importância da imunofenotipagem no diagnóstico diferencial das hemopatias malignas de linhagem plasmocitária. **Relato de caso:** Paciente masculino, 18 anos, admitido por abscesso na perna esquerda, associado a pancitopenia grau IV com Hb = 3,9, leuco = 1.200, N = 57,2%, Linf = 33,6%, Pla_q = 1.000, Ret = 0,4%. A principal hipótese diagnóstica foi, então, a aplasia de medula. Em seguimento ao diagnóstico, o mielograma revelou-se com predomínio de plasmócitos (51%), muito além do esperado. Devia-se, então, abrir mão de outros métodos para afastar mieloma múltiplo. Dessa forma, foi feita a imunofenotipagem destas células, as quais se apresentaram dentro da normalidade (CD 45+/CD19+/CD56-/Kappa e Lambda negativos). A eletroforese de proteína sérica e uri-

nária não apresentou pico monoclonal, imunofixação sérica e urinária normais, o que excluiu, assim, doença maligna de plasmócitos. **Discussão:** O mieloma múltiplo é a doença que mais se associa com plasmocitose medular, principalmente quando acima de 10%. Porém, o aumento de plasmócitos na medula óssea está, por vezes, relacionado à resposta contra a ação de antígenos, a doenças autoimunes ou à recuperação medular pós-quimioterapia. Os plasmócitos neoplásicos do mieloma e de outras gamopatias monoclonais exibem imunofenótipos aberrantes e restrição de cadeia leve expressa no citoplasma e, em menor grau, na superfície da membrana e servem de marcador no diagnóstico diferencial entre essas hemopatias malignas e a plasmocitose reativa. **Conclusão:** A positividade do CD 56/CD200/CD138/CD38, com restrição de cadeia leve κ ou λ no citoplasma, em adição com a negatividade do CD19/CD45, sugere fortemente o diagnóstico de plasmócito neoplásico, sendo exames indispensáveis para a confirmação diagnóstica. Portanto, a associação laboratorial ao quadro clínico foi fundamental para determinar o diagnóstico e, assim, conduzir o quadro.

184. ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS NA EVOLUÇÃO CLÍNICA DA MALÁRIA POR PLASMODIUM VIVAX

Moreira DG^{a,b}, Ventura AMRS^{a,b}, Sequeira CG^{a,b}, Libonati RMF^{a,c}, Chaves TSS^a, Neves FAR^a, Moreira MG^b

^a Instituto Evandro Chagas, Belém, PA, Brasil

^b Universidade do Estado do Pará (UEPA), Belém, PA, Brasil

^c Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: A malária constitui um dos principais problemas de saúde pública do mundo. O Brasil, em 2013, apresentou 174.111 casos, concentrados na Região Amazônica. Ao lado dos sinais e sintomas maláricos, costumam-se observar alterações hematológicas. Assim, em pacientes com malária é importante analisar o curso clínico da patologia, o que pode ser auxiliado pelo hemograma. **Objetivo:** Avaliar o comportamento das séries eritrocitária, leucocitária e plaquetária em indivíduos com malária por *Plasmodium vivax*. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo, observacional e descritivo, feito a partir da análise de 49 prontuários de pacientes, com idade superior a 18 anos, com malária pelo *Plasmodium vivax*, arquivados no Laboratório de Ensaios Clínicos em Malária do Instituto Evandro Chagas, de janeiro de 2010 a janeiro de 2013, nos quais o acompanhamento dos pacientes ocorreu em D0 (dia do diagnóstico de malária *vivax* e início do tratamento), D7 (uma semana após o início do tratamento) e D14 (duas semanas após o início do tratamento). Foram avaliados: idade, sexo, autoctonia, histórico de viagem para área endêmica, passado de malária, tempo de doença até o diagnóstico e dados laboratoriais, em D0, D7 e D14: número de hemácias, hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM, CHCM, leucócitos, basófilos, eosinófilos, metamielócitos, mielócitos, bastões, linfócitos, segmentados, monócitos, contagem plaquetária e parasitemia. **Resultados:** Nos pacientes avaliados, a parasitemia média foi de 6.684,2 *vivax*/mm³ em D0 e nula em D7 e D14. Na série eritrocitária, 44,9% dos pacientes apresentaram anemia (hemoglobina < 13 g/dL, em homens; e < 12 g/dL, em mulheres) em D0 (média: 12,4 g%). Observou-se que 75% dos pacientes tiveram anemia em D7 (média: 11,2 g%), a qual persistiu em 47,5% em D14 (média: 12,6 g%). Foram observadas alterações no VCM em D0, D7 e D14; e no HCM em D0 e D7. Na série leucocitária, 52,4% dos pacientes apresentaram leucopenia (leucócitos < 5.000/mm³) em D0 (média: 5.472 leucócitos/mm³). A frequência de leucopenia diminuiu para 36,8% em D7 (média: 5.981 leucócitos/mm³) e esteve presente em 57,6% em D14 (média: 5.073 leucócitos/mm³). A contagem de segmentados e monócitos esteve alterada em D0, D7 e D14; e a de linfócitos apenas em D14. A contagem plaquetária foi reduzida em 79,6% dos pacientes em D0 (média: 120.346 plaquetas/mm³) e 57,1% apresentaram plaquetopenia leve (entre 75.000 e 150.000 plaquetas/mm³). O número de plaquetas retornou a valores normais em 95,9% dos pacientes em D7 (média: 318.160 plaquetas/mm³) e em 97,5% em D14 (média: 284.420 plaquetas/mm³), de modo que as diferenças entre os valores médios foram estatisticamente significativas ($p < 0,001$, teste de Friedman, amstras pareadas). **Conclusão:** A contagem plaquetária mostrou-se mais suscetível a alterações na infecção malárica, fato observado pela maior frequência de plaquetopenia em relação à anemia e leucopenia em D0 e pelo seu maior índice de retorno a valores normais em D7 como resposta a terapêutica instituída, enquanto que tal fato foi mais bem observado na série leucocitária em D7 e na eritrocitária em D14, embora em menor intensidade. A avaliação desses aspectos pode ser de grande valia para suspeita diagnóstica de casos de malária *vivax* junto a achados clínicos em

áreas endêmicas e para acompanhamento do curso clínico e de achados laboratoriais na infecção.

185. EVALUATION OF THE ROLE OF C-REL, SUBUNIT OF NF-B, IN TRANSCRIPTIONAL REGULATION DURING IN VITRO INDUCTION OF REGULATORY T CELLS (iTREG) BY CHROMATIN IMMUNOPRECIPITATION USING MICROARRAYS (CHIP-CHIP)

Leão V^a, Schiavinato JL^a, Freitas HT^b, Covas DT^{b,c}, Zago MA^{b,c}, Panepucci RA^{a,b}

^a Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Hemocentro de Ribeirão Preto, Centro de Terapia Celular (CTC), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^c Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Regulatory T cells (Tregs) play a critical role in peripheral tolerance control for regulating the immune system homeostasis; therefore, they are known as major immune system regulatory cells. Tregs may be naturally occurring (nTregs), thymus-derived, or by inducing, in the periphery, Tnaive cells (pTregs). The iTregs can be generated *in vitro* by starting naive CD4+ (Tnaive) cells from umbilical cord blood with the addition of TGF- β and aTreg in the presence of IL-2. Given the great therapeutic potential of iTregs, there is great interest in understanding the mechanisms involved in their generation. Recent studies indicate an important role of NF- κ B via the generation of these cells, especially of subunit c-REL. In the literature, however, there are insufficient data on the evaluation of genes potentially regulated by this factor. With this in mind, this study evaluated the interaction of c-REL with promoter regions of the genome in Tnaive cells and iTregs generated *in vitro*. The analysis used the methodology of chromatin immunoprecipitation linked to the use of microarrays (ChIP-chip) containing probes against the promoter regions of the (approximately 21,000 transcripts - RefSeq) human genome. Furthermore, comparing the expression profile of genes with an important role in the biology of iTreg and Tnaive cells, the study results showed that the generation of iTreg (CD4⁺CD25⁺CD127⁻FOXP3⁺) was characterized by an increase of 16-fold in the gene expression of FOXP3 (main transcription factor involved in differentiation) and in relation to the pro-inflammatory interleukins, a reduction of 85% in TNF- α gene expression, a reduction of 97% in the expression of IFN- γ , and a decrease of 89% in the IL-1 β gene expression were observed (all results were compared to Tnaive). Finally, it was demonstrated that c-REL is linked to promoters of genes such as IL2RA (CD25), CTLA4, TNFR2, IL-10, CD69, and REL itself. These data reveal potential regulatory mechanisms exerted by c-REL during the process of generation of iTreg. **Keywords:** Regulatory T lymphocyte induced - iTreg, naive T; NF- κ B; c-REL; chromatin immunoprecipitation - ChIP-chip.

186. AMILOIDOSE PRIMÁRIA COM ACOMETIMENTO RENAL – RELATO DE CASO

Nóbrega EC^a, Dantas DI^a, Júnior ALAI^a, Lemos NDS^a, Filgueiras PL^a, Macedo RT^a, Ribeiro ML^a, Pita DFQ^a, Lima ARM^b, Botelho LFB^a

^a Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil

^b Instituto Cândida Vargas, João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: Amiloidose primária é uma doença rara que tem impacto negativo na sobrevida dos pacientes acometidos. É uma gamopatia monoclonal caracterizada por depósito de cadeia leve de imunoglobulina em diversos tecidos, desde que adquiram uma conformação amiloide. A forma primária é bem menos frequente. A associação com o mieloma múltiplo é mais comum. A faixa etária mais prevalente é em idosos. Os principais órgãos acometidos são fígado, pulmão, rins, pele, trato intestinal e coração. O quadro renal mais característico é de proteinúria maciça, de níveis nefróticos, tipicamente com rins de volume aumentado em exames de imagem. O diagnóstico é histopatológico. O tratamento envolve a administração de drogas quimioterápicas. Em alguns casos, o transplante autólogo de células-tronco hematopoéticas pode ter benefícios. **Objetivo:** Relatar um caso de amiloidose primária com acometimento renal por causa da raridade da doença e reforçar a amiloidose como diagnóstico diferencial de proteinúria no idoso. **Relato de caso:** I.P.B., 72 anos, sexo feminino, viúva, do lar, previamente assintomática, deu entrada no

Hospital Universitário em abril de 2014, em anasarca com duração de 15 dias. Investigação inicial evidenciou proteinúria de 9,5 g/24h, bem como urina 1 que apresentava cilindros hemáticos, hematúria e dismorfismo eritrocitário, alteração da função renal e USG de vias urinárias e evidenciava rins aumentados de volume. Sem outras queixas clínicas. Após compensação clínica, fez biópsia renal, cujo histopatológico revelou depósito de proteína amorfa, de conformação amiloide, que se mostrou positiva para proteína amiloide após coloração com vermelho-congo e fechou-se diagnóstico de amiloidose renal. Paciente foi encaminhada para serviço de referência em hematologia, onde fez mielograma, biópsia de medula óssea, Rx de ossos longos, eletroforese de proteínas séricas e dosagem sérica de imunoglobulinas. Não fez imunofixação de proteínas séricas nem pesquisa sérica de cadeias leves livres, por causa da indisponibilidade no serviço e do baixo poder aquisitivo da paciente. Mielograma, biópsia de medula óssea, Rx ossos longos e dosagem de imunoglobulinas: normais. Eletroforese de proteínas séricas: componente monoclonal de cadeia leve lambda associado com cadeias pesadas. Os demais exames foram normais. Firmou-se o diagnóstico de amiloidose primária com acometimento renal. Iniciado tratamento com esquema CTD (ciclofosfamida, talidomida e dexametasona mensal). Atualmente, a paciente encontra-se no segundo ciclo com boa evolução clínica. **Conclusão:** A amiloidose primária com acometimento renal deve sempre ser suspeitada nos casos de síndrome nefrótica em idosos.

187. CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOFORMAS DO CITOCROMO P450 EM PACIENTES COM MALÁRIA POR PLASMODIUM VIVAX DA CIDADE DE MANAUS (AM)

Jesus JS^a, Magalhães IRDS^a, Lacerda MVG^b, Tarrago AM^c, Cerqueira BAV^d, Gonçalves MS^e, Neto JPM^a

^a Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

^b Fundação de Medicina Tropical (FMT), Manaus, AM, Brasil

^c Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brasil

^d Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Salvador, BA, Brasil

^e Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

Introdução: De elevada prevalência no Brasil, especificamente na Região Amazônica, a malária é uma doença infecto-parasitária com impactos socioeconômicos em áreas endêmicas. O *Plasmodium vivax* é o agente de maior prevalência e tem sido associado a casos graves de malária antes atribuída apenas ao *Plasmodium falciparum*. A variabilidade genética do hospedeiro no metabolismo de fármacos antimaláricos, influenciada pelo polimorfismo de isoformas do citocromo P450 (CYP), poderia levar a alterações significativas na resposta terapêutica antimalárica. Pouco se conhece sobre a influência dos fatores genéticos no aumento da suscetibilidade individual do hospedeiro ao desenvolvimento de formas graves da doença. **Objetivo:** Determinar a frequência dos alelos CYP2B6*6, CYP2C8*3 e CYP2D6*4 em pacientes com malária vivax, avaliar a relação entre os alelos encontrados e a ocorrência de malária grave e ainda estabelecer o perfil hematológico e bioquímico entre os portadores dos alelos encontrados. **Material e métodos:** Para tanto foram usadas amostras de sangue periférico de 231 pacientes com malária vivax atendidos numa unidade de saúde de referência de Manaus. Foi usada a técnica de PCR em tempo real (qPCR) com o sistema de TaqMan® para a discriminação alélica. **Resultados:** Dos pacientes com malária vivax incluídos no estudo, 85 (36,8%) foram portadores de malária grave, 136 (58,9%) de malária não grave e 10 (4,3%) não foram classificados quanto à gravidade em virtude da ausência de dados clínico-laboratoriais, os quais foram avaliados somente com relação à frequência alélica. A frequência de indivíduos portadores do alelo CYP2B6*6 foi de 42,2%, com 27,8% em heterozigose (G/T) e 14,3% em homozigose (T/T). Para o alelo CYP2D6*4 a frequência de portadores foi de 16,5%, com 15,2% em heterozigose (G/A) e 1,3% em homozigose (A/A). Já para o alelo CYP2C8*3, somente heterozigotos foram detectados (13,5%). O alelo CYP2D6*4 foi mais prevalente entre os pacientes que desenvolveram gravidade à doença malárica, porém, as frequências dos alelos CYP2B6*6 e CYP2D6*4 não foram diferentes entre os grupos grave e não grave. Todavia, encontramos associação significativa entre indivíduos heterozigotos de CYP2D6*4 e casos graves da doença malárica. **Conclusão:** Este estudo foi pioneiro ao descrever a frequência dos alelos CYP2B6*6, CYP2C8*3 e CYP2D6*4 em pacientes portadores de malária vivax e tentar associar tais polimorfismos à gravidade da doença. Entretanto, há de se comentar a importância de se desen-

volver estudos futuros focados na avaliação do impacto do perfil farmacogenético no metabolismo dos antimaláricos, especialmente a primaquina, único fármaco disponível usado no tratamento e na prevenção de recaídas pelo *P. vivax*, e também para a confirmação e esclarecimento das associações encontradas neste estudo, pois somente assim será possível predizer qual é a real contribuição desses fatores genéticos no desfecho da doença malárica.

188. POLIMORFISMO C677T DA METILENOTETRAHIDROFOLATO REDUTASE EM PACIENTES PORTADORES DE MALÁRIA VIVAX DA CIDADE DE MANAUS (AM)

Barreto KS^a, Castro LSM^a, Andrade FDN^a, Souza RT^a, Lacerda MVG^b, Nogueira PA^c, Gonçalves MS^d, Cerqueira BAV^e, Neto JPM^a

^a Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

^b Fundação de Medicina Tropical (FMT), Manaus, AM, Brasil

^c Instituto Leônidas e Maria Deane, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Manaus, AM, Brasil

^d Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

^e Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Salvador, BA, Brasil

Introdução: Apesar de décadas de pesquisa, a doença malárica continua a ser um dos principais problemas de saúde pública. Um dos desafios na luta contra essa doença é avaliar suscetibilidade genética e decifrar os mecanismos envolvidos para usá-los como novos alvos contra a malária. No Brasil, 99,8% dos casos da malária são oriundos da Região Amazônica, considerada área endêmica. O *Plasmodium vivax* é a espécie de maior prevalência, responsável por aproximadamente 84% dos casos registrados. A metilenoetetrahidrofolato redutase (MTHFR) é uma enzima participante da via metabólica da homocisteína. Atualmente, poucos estudos avaliaram a influência dos polimorfismos C677T e A1298C do gene da MTHFR à malária em diferentes populações no mundo e no Brasil, com resultados contraditórios que envolvem a suscetibilidade ou não à evolução para malária grave. **Objetivo:** Caracterizar os SNPs C677T e A1298C em pacientes com malária vivax e correlacioná-los com a suscetibilidade às clínicas que acometiam os pacientes do estudo. **Material e métodos:** A caracterização molecular dos polimorfismos envolveu 310 pacientes e foi feita pela técnica de RFLP-PCR. O diagnóstico da malária foi feito pelo método de gota espessa e a confirmação de monoinfecção por essa espécie foi feita por diagnóstico molecular (PCR) para excluir *P. falciparum* e mistas (*vivax/falciparum*). **Resultados:** A frequência de indivíduos portadores para C677T foi de 51,52%, 37% em heterozigose (C/T) e 14,5% em homozigose (T/T); enquanto que para o polimorfismo A1298C, encontramos 9,35% indivíduos portadores, 6,75% em heterozigose (A/C) e 2,6% em homozigose (C/C). Nenhuma associação foi significativa para o SNP A1298C. Quando correlacionamos presença de anemia severa prévia e o SNP C677T, verificamos menor frequência nos indivíduos portadores do polimorfismo. Associações do SNP C677T com as clínicas dos pacientes demonstraram dados estatísticos significativos para dor abdominal ($p = 0,041$) e hepato-esplenomegalia ($p = 0,005$). Quando associamos os parâmetros hematológicos e bioquímicos com os genótipos para o SNP 677C/T, apenas a albumina demonstrou resultados estatisticamente significativos ($p = 0,015$). **Conclusão:** Infelizmente, a escassez de dados na literatura sobre a influência desses polimorfismos em pacientes portadores de malária vivax, principalmente em nossa região, foram fatores limitantes para avaliarmos o desfecho dos polimorfismos estudados na clínica dos pacientes portadores de malária vivax. Cumpre ressaltar que este estudo foi pioneiro ao descrever a frequência desses SNPs na Região Amazônica, além de correlacionar a clínica de portadores de malária.

189. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS: ANÁLISE EM MILITARES DURANTE O CURSO DE OPERAÇÕES NA SELVA PELO CENTRO DE INSTRUÇÃO DE GUERRA NA SELVA (CIGS) – MANAUS (AM)

Bacha TJ^a, Santos EMD^a, Dias AJF^a, Oliveira MAA^b, Carneiro JS^c, Brito RS^c, Teixeira JS^a, Gonçalves MS^a, Cerqueira BAV^e, Neto JPM^a

^a Centro de Instrução de Guerra na Selva (CIGS), Manaus, AM, Brasil

^b Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

^c Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brasil

^d Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

^e Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Salvador, BA, Brasil

Introdução: Treinamentos físicos no exercício militar são comuns, têm sido descritos como benéficos no processo aeróbio e melhoram a capacidade física e funcional do militar. Contudo, quando a exigência física é intensa, pode levar a lesões musculares e prejudicar o desempenho do militar, bem como induzir a liberação de componentes celulares prejudiciais para a corrente sanguínea e acarretar em muitos militares desidratação e até a desintegração celular do músculo estriado, acompanhada de insuficiência cardíaca e renal. **Objetivo:** Avaliar as variações bioquímicas antes e após período de intenso esforço físico. **Material e método:** Foram avaliados os parâmetros hematológicos e bioquímicos, bem como o prontuário clínico médico de 160 militares que participaram do Curso de Operações na Selva (COS) de julho a agosto de 2013. A primeira coleta (1C) foi feita antes do início do COS e a segunda (2C), 42 dias após. Associação e quantificação da força da relação linear foram feitas entre as variáveis contínuas pelo teste de correlação Pearson. **Resultados:** Correlações positivas e negativas foram encontradas para diversas associações. CK/SGT ($p = 0,032$), CK-MB/VLDL ($p = 0,024$), GGT/VLDL ($p < 0,001$), GGT/TRI ($p < 0,001$), GGT/URE ($p < 0,001$), TGO/GGT ($p = 0,004$), TGP/GGT ($p < 0,001$), TGP/VLDL ($p = 0,002$), TGO/CK ($p < 0,001$), TGO/CK-MB ($p < 0,001$), HDL/CK-MB ($p < 0,001$), GLI/CK ($p = 0,023$), GLI/CK-MB ($p = 0,022$), GLI/COL ($p = 0,004$), GLI/HDL ($p < 0,001$), GLI/LDL ($p < 0,001$), GLI/VLDL ($p < 0,001$), GLI/TRI ($p < 0,001$), CK-MB/TRI ($p = 0,024$), CK-MB/URE ($p = 0,014$), URE/HDL ($p < 0,001$), LDL/TRI ($p < 0,001$), HDL/CK ($p < 0,001$). **Discussão:** A enzima creatina quinase é demonstrada amplamente como marcador indireto de dano muscular. Seu aumento leva à diminuição da potência e da força muscular. O estudo apresentou uma forte correlação entre os marcadores musculares, renais e hepáticos. Nossos dados corroboram a literatura quanto à importância da dosagem dessas enzimas, a fim de prevenir danos musculares severos, incluindo cardíacos e renais. Análises dos marcadores bioquímicos durante todo o curso mostram-se obrigatórias para o manejo clínico dos militares, caso haja necessidade. Entendemos também que uma boa hidratação e balanceada alimentação durante os exercícios físicos intensos são necessários, a fim de se evitar e/ou diminuir lesões musculares comuns. **Conclusão:** A mensuração da magnitude do dano muscular é essencial, principalmente antes e durante intensa sessão de exercícios, uma vez que a atividade física intensa, no período de 42 dias, foi suficiente para promover alterações importantes no perfil bioquímico e muscular do militar.

190. COMPARAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE FERRITINA, HEMATÓCRITO E HEMOGLOBINA E OS HÁBITOS DE VIDA DE INDIVÍDUOS DESCENDENTES DE ITALIANOS ATENDIDOS EM UM LABORATÓRIO DE CAXIAS DO SUL (RS)

Reis D, Rodrigues A, Cavagnoli N, Cappellati T, Poeta J

Faculdade Serra Gaúcha (FSG), Caxias do Sul, RS, Brasil

Introdução: A ferritina, considerada a mais importante proteína de reserva do ferro, é uma proteína globular que se localiza essencialmente no fígado. A determinação dessa proteína é considerada um importante parâmetro para o diagnóstico e acompanhamento terapêutico de processos que dependem de ferro, como a eritropoiese. Toda molécula de ferro que não for usada na eritropoiese será armazenada na forma de ferritina. Por fazer parte do grupo de proteínas de fase aguda, a ferritina se eleva em resposta a infecções, traumatismos e inflamações agudas. **Objetivo:** Correlacionar os níveis de ferritina, hemoglobina, hematócrito com hábitos de vida de indivíduos descendentes de italianos em Caxias do Sul (RS). **Material e métodos:** De outubro de 2013 até fevereiro de 2014 foi conduzido um estudo transversal por conveniência, que avaliou prontuários de pacientes atendidos em um laboratório de Caxias do Sul. Foram incluídos todos os prontuários de pacientes com idade igual ou maior de 18 anos que tinham registrados os exames hemograma e ferritina. Foram excluídos prontuários cujos dados estavam incompletos. Após a análise dos dados, todos os pacientes foram contatados e convidados a participar da pesquisa. Aqueles que aceitaram responderam o questionário sobre hábitos de vida, grau de parentesco e descendência e assinaram o termo de consentimento. A análise estatística foi feita com o teste qui-quadrado e o SPSS 20.0 com $p < 0,05$. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Círculo (FSG). **Resultados:** O estudo analisou 272 prontuários (69% mulheres) separados em dois grupos: descendentes de

italianos ($n = 109$) e demais descendentes ($n = 163$). Levou em consideração as respostas dos questionários. A média de idade \pm desvio padrão (DP) para o grupo de descendentes italianos foi de $43,6 \pm 16,8$ e $40,5 \pm 16,6$ para o grupo dos demais descendentes. Encontramos diferença significativa entre os descendentes de italianos e os demais descendentes quanto aos níveis baixo, normal e elevado de ferritina e também quanto aos valores baixos e normais de hematócrito e hemoglobina ($p < 0,001$). Os valores de ferritina mostraram-se elevados em 46% dos homens e em 7% das mulheres. Quanto ao uso de suplementos contendo ferro, 2,6% relataram fazer uso; 9% das mulheres estavam na menopausa; 8,5% praticavam atividade física; 6,4% declararam consumir, semanalmente, alimentos ricos em frituras; 88% e 93% declararam não fazer uso de bebida alcoólica e cigarro, respectivamente. **Conclusão:** Encontramos diferença estatística entre os grupos e os níveis baixo, normal e elevado de ferritina. O valores de ferritina mais elevados estavam nos descendentes de italianos, o que confirmou nossa hipótese. Isso pode dever-se a uma pré-disposição dos indivíduos de origem europeia, principalmente os italianos, a desenvolver uma doença chamada hemocromatose, na qual há uma desordem no metabolismo de ferro, que resulta em uma absorção maior. Porém, mais estudos tornam-se necessários para comprovar esses dados, quando relacionados com as diferentes etnias presentes na região, pois esses valores elevados de ferritina devem ser levados em consideração na clínica desses pacientes, para não serem relacionados a nenhuma patologia.

191. GLUTATIONA S-TRANSFERASE (GSTT1 E GSTM1): CORRELAÇÃO COM PARÂMETROS HEMATOLÓGICO, BIOQUÍMICO E ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO DA CIDADE DE MANAUS (AM)

Oliveira MAA^a, Souza GKBB^a, Lima DSN^a, Passos LF^a, Pontes MO^b, Lima ES^a, Bacha TJ^c, Carneiro JS^b, Lima RR^b, Neto JPM^a

^a Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

^b Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brasil

^c Centro de Instrução de Guerra na Selva (CIGS), Manaus, AM, Brasil

Introdução: As enzimas da superfamília glutatona S-transferase participam do mecanismo de detoxificação metabólica, conjugam compostos eletrofílicos, os tornam hidrossolúveis, facilitam sua excreção e, dessa forma, protegem células contra espécies reativas de oxigênio (ROS). Polimorfismos em genes que codificam as principais enzimas atuantes na detoxificação de xenobióticos podem contribuir para o aumento de ROS, levar a danos em biomoléculas como o DNA e tornar o organismo suscetível a doenças, entre elas o lúpus eritematoso sistêmico (LES). **Objetivo:** Investigar os polimorfismos GSTT1 e GSTM1 com a progressão dos sintomas do LES. **Material e métodos:** Foram selecionados 68 pacientes diagnosticados com LES atendidos no Ambulatório Araújo Lima da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Foram investigados os genótipos da GST com a técnica de PCR Multiplex, que incluiu o gene da Globina beta como controle interno da reação. Para avaliar a progressão da doença os pacientes foram divididos em três grupos de acordo com índice de atividade da doença (Sledai): lúpus controlado (LC) ($n = 27$), lúpus ativo (LA) ($n = 16$) e nefrite lúpica (NL) ($n = 25$). A média de idade (anos) para cada grupo foi 32, 30 e 28 anos, respectivamente. **Resultados:** Os genótipos encontrados foram distribuídos em quatro tipos; GSTM1^{Normal}/GSTT1^{Normal}, GSTM1^{Nulo}/GSTT1^{Normal}, GSTM1^{Normal}/GSTT1^{Nulo} e GSTM1^{Nulo}/GSTT1^{Nulo}, respectivamente nos grupos LC (11,1%, 14,8%, 22,2%, 51,9%), LA (25%, 31,3%, 25%, 18,8%), NL (68, 16%, 8%, 8%) ($p < 0,001$). Correlações entre os genótipos da GST (normal vs selvagem) por Grupo Sledai e parâmetros hematológico, bioquímico e de estresse oxidativo demonstraram dados com significância estatística, respectivamente: GRUPO LC, hematócrito ($p = 0,01$), hemoglobina ($p = 0,06$), glutatona redutase ($p = 0,048$) e tióis ($p = 0,010$); GRUPO LA, ureia ($p = 0,04$) e C3 ($p = 0,009$); GRUPO NL (nenhum). As mesmas correlações, quando feitas independentemente de grupo, apresentaram: contagem de leucócitos ($p = 0,002$), plaquetas ($p = 0,034$), hematócrito ($p = 0,010$), hemoglobina ($p = 0,002$) e dosagens de ureia ($p = 0,003$), creatinina ($p = 0,001$), ácido úrico ($p = 0,006$), proteínas totais ($p < 0,001$), albumina ($p < 0,001$), proteína C3 ($p < 0,001$), proteína C4 ($p = 0,036$), glutatona peroxidase ($p = 0,002$), tióis ($p < 0,001$), malondialdeído ($p < 0,001$) e cálculos de capacidade antioxidante total ($p = 0,011$) e índice de estresse oxidativo ($p = 0,006$). **Conclusão:** Nossos resultados confirmam estudos prévios que encontraram uma frequência elevada de deleções nos genes GSTM1 e GSTT1 no Brasil. Os re-

sultados parciais obtidos sugerem a participação das deleções T1 e TM com o desequilíbrio de óxido-redução e aumento do estresse oxidativo nesses pacientes. No entanto, é necessária melhor investigação e comparação com controles para averiguar a constância das correlações encontradas.

192. ANÁLISE DO HEMOGRAMA EM PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE SEPSE

Mendes PHM, Romão MM, Bottura BF, Sales GM, Silva JBCB

Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Sepsé é definida por dois ou mais sinais de síndrome da resposta inflamatória sistêmica em paciente com infecção suspeita ou confirmada. Permanece como desafio para a Medicina, pois há possibilidade de disfunção de múltiplos órgãos e sistemas, inclusive hematológico. **Objetivo:** Analisar perfil de idade e sexo dos pacientes em sepsé do serviço de urgência de hospital universitário de Campinas e correlacionar possíveis alterações hematológicas com o quadro séptico. **Material e métodos:** Foram usados dados do primeiro hemograma e de exames bioquímicos feitos nos pacientes com suspeita de sepsé de março a junho de 2014 e que permaneceram incluídos por mais de 24 horas no protocolo de sepsé da instituição. Foram selecionados: hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, contagem de leucócitos e número de plaquetas. Também foram usados os valores de lactato, proteína C reativa e culturas de sangue e de urina. **Resultados:** Foram incluídos 34 pacientes, 59% homens. A mediana de idade foi de 63 anos e a média de 59. Verificamos que 65% apresentaram anemia, com hemoglobina média de 11,1 g/dL; entre os anêmicos, 68% tinham VCM normal, 14% microcitose e 18% macrocitose. Havia leucocitose em 47% dos indivíduos e em 59% identificou-se linfopenia. A média de plaquetas foi de 265.000/UL; em 76% a plaquetometria era normal e em 15% havia plaquetopenia. Em 38% o lactato estava acima do valor de referência e a PCR média foi de 16,73. Todos os valores obtidos estavam acima do valor de referência. Sobre o foco da infecção, em 62% dos casos foi pulmonar, em 26% urinário, em 6% abdominal, em 3% corrente sanguínea e em 3% pele. Em 65% houve cultura positiva, 45,5% eram Gram-positivos, 50% Gram-negativos e 4,5% fungo. Ao considerar apenas os doentes linfopênicos, 50% também tinham cultura positiva para Gram-negativos e 6% para fungo. **Discussão:** Por ser uma situação de atividade inflamatória aumentada, a sepsé pode repercutir em diversas alterações hematológicas. Segundo alguns autores, leucopenia, plaquetopenia e a elevada média de idade são fatores de mau prognóstico. Apesar de não levarmos em consideração que os pacientes poderiam apresentar patologias prévias e por isso ter alguma citopenia de base, está de acordo com a literatura o fato de a maioria apresentar linfopenia, uma vez que estão submetidos a estresse severo e infecções. Na fase aguda da sepsé, há recrutamento tecidual maior quando há atividade inflamatória mais intensa, diminuindo o número de linfócitos no sangue, e o quadro séptico se apresenta de modo mais grave. De acordo com estudos prévios e com o presente trabalho, há maior prevalência de sepsé com foco pulmonar. Por isso, esperávamos encontrar um predomínio de culturas positivas para bactérias Gram-positivas, porém ela foi de 45,5%, o que pode ser explicado pela idade média dos nossos pacientes, que poderiam ter comorbidades prévias ou ter sido expostos a procedimentos médicos e internações, porém não analisamos esse dado no trabalho. **Conclusão:** A sepsé interfere no sistema hematopoético. Logo, para sua avaliação inicial, devem ser usados exames como hemograma, lactato e PCR. A presença de linfopenia pode ser considerada um marcador de mau prognóstico. Porém, por causa de um pequeno número de pacientes inseridos aqui, acreditamos que para maiores conclusões serão necessários mais estudos.

193. PERSISTÊNCIA DA ESPLENOMEGALIA PÓS-REMISSÃO DE ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE COMO MANIFESTAÇÃO CLÍNICA EM PACIENTE COM IMUNODEFICIÊNCIA COMUM VARIÁVEL – RELATO DE CASO

Hokama NK^a, Hokama POM^a, Ikoma MRV^b, Penitenti M^b, Olbrich-Neto J^a, Tonami CA^a

^a Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital Amaral Carvalho, Jauá, SP, Brasil

Relato de caso: Homem, atualmente com 21 anos, foi acompanhado pelo Serviço de Hematologia desde os 13 anos por causa de quadro de anemia

hemolítica autoimune. Na época recebeu transfusões e corticosteroides, com boa resposta. Foi acompanhado até os 16 anos em decorrência de manutenção de esplenomegalia, na ausência de evidências hemolíticas e teste direto da antiglobulina negativo. Em novembro de 2013 procurou o serviço por causa do aparecimento do quadro icterico durante quadro infeccioso de vias aéreas superiores. Foi constatado quadro colestatico discreto, que desapareceu em alguns dias. Não foi detectado reaparecimento do quadro hemolítico. A esplenomegalia foi novamente observada e decidido reinvestigar a possível etiologia. Foi solicitada eletroforese de proteínas séricas, que detectou hipogamaglobulinemia importante. A dosagem de imunoglobulinas acusou diminuição acentuada de IgA, IgM e IgG (90,2 mg% para o valor normal de 763 a 1.685 mg%). Foi solicitada tomografia de tórax, que descartou timoma, mas revelou alterações crônicas em parênquima pulmonar, compatível com pneumopatia crônica. Foi solicitado perfil imune de sangue periférico por citometria de fluxo, que revelou: 1) distribuição celular normal; 2) células B maiores do que o normal e com superexpressão de CD20. Ausência de células B de memória imunológica; 3) aumento de células T ativadas CD4+ e CD8+; 4) diminuição de células T CD4 e CD 8 naíve e efetoras e aumento de células T CD 4 de memória. Conclui-se tratar de caso de imunodeficiência combinada variável (IDCV), com atividade autoimune como principal manifestação, e esplenomegalia. **Discussão:** A IDCV é uma síndrome cujo denominador comum é a deficiência acentuada de imunoglobulinas, com fundamento etiopatogênico diverso e manifestações clínicas variáveis. Em 2005, a European CVID Registry publicou artigo que propôs uma divisão da doenças em cinco fenótipos clínicos, nas quais 83% dos 334 pacientes analisados poderiam ser classificados sem sobreposição. Levando em conta essa classificação, nosso paciente é classificado como o fenótipo com manifestações autoimunes. Os autores sugerem que a presença de esplenomegalia e bronquiectasias é manifestação comum a todos os subtipos. Nesse ano, Gathmann et al., após analisar 2.212 pacientes com IDCV provenientes de 28 centros médicos, afirmaram que a presença de esplenomegalia e granulomas e autoimunidade estão relacionadas. Em outro artigo recente, pelo fato de vários defeitos monogênicos terem sido descritos recentemente, com quadro clínico IDV-like, Seppänen et al. sugerem novos critérios para o diagnóstico da IDCV, como a diminuição de IgG e IgM e/ou IgA concomitantes e idade de 4 anos ou mais no momento do diagnóstico, o que é compatível com a evolução do nosso paciente.

Referências:

- Gathmann B, Mahlaoui N, CEREDIH, Gérard L, Oksenhendler E, Warnatz K, et al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134(1):116-26.
- Chapel H, Lucas M, Lee M, Bjorkander J, Webster D, Grimbacher B, et al. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. *Blood.* 2008;112(2):277-86.
- Seppänen M, Aghamohammadi A, Rezaei N. Is there a need to redefine the diagnostic criteria for common variable immunodeficiency? *Expert Rev Clin Immunol.* 2014;10(1):1-5.

194. RELAÇÃO DA EXPRESSÃO DO GENE ABCA4 EM CÉLULAS DO SANGUE PERIFÉRICO COM A MORFOLOGIA DO NÚCLEO DOS NEUTRÓFILOS EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA RETINIANA DE STARGARDT

Silva MS^a, Maia AL^{a,b}, Ramos IB^{a,b}, Sarmento CS^a, Rosa AAM^a, Filho NMC^a, Lemso JAR^{a,b}

^a Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

^b Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (HEMOPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: A doença de Stargardt é uma afecção retiniana, recessiva com mutações no gene ABCA4, localizado no cromossomo 1 (p13;p21), que é responsável pela ação do ácido retinoico responsável pelo transporte de ATP para a membrana dos cones e bastonetes. Na literatura atual não existe relação da expressão gênica do ABCA4 com a morfologia das células do sangue periférico dos pacientes diagnosticados com a doença de Stargardt. **Objetivo:** Quantificar a expressão do gene ABCA4 em células do sangue periférico, em pacientes portadores de doença de Stargardt, para estabelecer sua relação com maturação dos granulócitos. **Material e métodos:** Foram analisados sete pacientes portadores de doença de Stargardt e 14 indivíduos controles, pelo método PCR quantitativo em tempo real. **Resultados:** A análise da expressão gênica revelou que os pacientes expressam 17 vezes menos quando comparados com o grupo controle (p = 0,002). **Conclusão:** Foi evidenciado que a baixa expressão do gene ABCA4 influencia na matura-

ração dos neutrófilos com maior frequência de bastonetes em relação ao grupo controle ($p = 0,001$). Esses achados podem explicar que o gene ABCA4 tem uma segunda função na maturação dos neutrófilos.

195. ANÁLISE PRELIMINAR DO PAPEL DA SINALIZAÇÃO DA ADENOSINA NA GERAÇÃO DE CÉLULAS T REGULATÓRIAS A PARTIR DE CÉLULAS T NAÍVE

Freitas HT^{a,b}, Schiavinato JLDS^{a,c}, Leão V^{a,c}, Scheucher PS^a, Araújo AG^a, Zago MA^{a,c}, Covas DT^{a,b,c}, Panepucci RA^{a,b,c}

^a Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: As células T regulatórias (Tregs) participam, em parte, da manutenção da autotolerância e previnem o desenvolvimento de diversos tipos de doenças autoimunes. Além disso, exercem um papel fundamental no controle da rejeição de transplantes. Diversos protocolos mostraram que é possível obter Tregs a partir de células T naïve CD4+ *in vitro*. Para tal, é consenso que o TGF- β e a interleucina-2 (IL-2) são capazes de direcionar as células T naïve CD4+ a se tornarem regulatórias após um estímulo antigênico (anti-CD3/CD28). Além disso, o uso de outros estímulos, como ácido retinoico (atRA) e rapamicina, é capaz de favorecer essa geração. **Resultados:** Nosso grupo recentemente observou que durante a imunomodulação de linfócitos T pelas células estromais mesenquimais (MSCs), essas eram capazes de produzir adenosina, que por sua vez participa do processo de imunorregulação. Além disso, diversos trabalhos indicam que as MSCs suprimem a proliferação dos linfócitos T pela geração de Tregs. Em linha, outro recente estudo de nosso grupo indica que as MSCs induzem a geração de Tregs por meio da regulação negativa da via TCR e da via AKT-mTOR. Diversas evidências apontam que a ADO pode atuar regulando negativamente a via mTOR. **Discussão:** Acreditamos que a ADO pode participar do processo de geração de Tregs modulando a via mTOR. Reforçando essa ideia, estudos recentes indicam que a ativação de receptores de adenosina, mais especificamente A_{2b}, com agentes agonistas leva ao aumento da produção de células T regulatórias, enquanto o uso de agentes antagonistas desses receptores leva à diminuição da diferenciação de Tregs. Além disso, a sinalização do receptor A_{2a} (outro receptor de ADO) favorece a geração de Tregs. Porém, esses estudos mostram a geração de Tregs a partir de células T naïve de camundongos. Atualmente, nosso grupo vem trabalhando com a geração de Tregs a partir de células T naïve humanas. Apesar da obtenção de células com fenótipo regulatório, essa geração parece incompleta, uma vez que a região TDSR (Treg cell-specific demethylated region) do FoxP3 está totalmente metilada. Visando à obtenção de melhorias em nossos protocolos de obtenção de Tregs, foram usadas diferentes concentrações de agonistas e antagonistas de Adenosina (ADO) na indução de células T regulatórias (iTreg). Foi avaliada a morte celular e a expressão gênica e feita a imunofenotipagem das células geradas. Nossos resultados preliminares apontam que o uso de um agonista de ADO não seletivo (NECA) induz um aumento na geração de células T regulatórias e um aumento na expressão gênica de FoxP3 e TGF β , quando comparadas com seus controles. **Conclusão:** Dada a grande importância das Tregs no contexto imunológico, a produção eficiente de Tregs *in vitro* tem importância fundamental para o desenvolvimento de novos protocolos terapêuticos para o tratamento de doenças autoimunes e no combate à rejeição de transplantes.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: BIOLOGIA

196. AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HEMOSTÁTICAS E HEMATOLÓGICAS DURANTE O CICLO MENSTRUAL EM MULHERES JOVENS SOB USO DE ANTICONCEPCIONAL ORAL

Freitas LG, Silva RMM, Nunes FFC, Carvalho MG, Dusse LMS

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: O ciclo menstrual é um processo complexo que envolve replicação e crescimento celulares sob influência de hormônios, fatores

de crescimento, neurotransmissores e moléculas reguladoras. A menstruação é descrita como parte de um processo hemostático desencadeado pela formação de agregado plaquetário, coágulo de fibrina e, posteriormente, ativação do sistema fibrinolítico para dissolução do coágulo e remodelagem do tecido endometrial. A P-selectina é uma glicoproteína da superfície plaquetária que medeia interações entre endotélio, plaquetas e leucócitos. Inicialmente, estabiliza a interação GPIIb/IIIa-fibrinogênio até a formação do tampão plaquetário e representa um elemento conectivo entre inflamação e trombose. A GPIX e a GPIIb/IIIa atuam, respectivamente, nos processos de adesão e agregação plaquetárias, quando ocorre lesão do vaso sanguíneo. A interação entre plaquetas e leucócitos é observada em muitos processos inflamatórios e trombóticos e visa à formação de agregados plaquetas-leucócitos que constituem uma superfície de ancoragem para células inflamatórias, além de secretar diferentes proteases que aumentam a adesão plaquetária dependente do fator von Willebrand (FvW). As pesquisas na área de homeostasia ao longo do ciclo menstrual apresentam resultados conflitantes. **Material e métodos:** A presente coorte (CAAE 03770212.3.0000.5149) objetiva avaliar a condição hemostática e o hemograma de mulheres saudáveis, entre 18 e 30 anos, sob uso de anticoncepcional oral, no segundo dia da menstruação e no dia médio do mesmo ciclo. As intensidades médias de fluorescência (IMF) das glicoproteínas plaquetárias CD41a (GPIIb/IIIa), CD61 (GPIIIa), CD42a (GPIX), CD62P (P-selectina), bem como a porcentagem de plaquetas CD62P⁺, de agregados plaquetas-monócitos (APM) e de agregados plaquetas-neutrófilos (APN), foram avaliadas por citometria de fluxo em 20 mulheres. A análise estatística dos dados foi feita com o programa GraphPad Prism. Para a comparação de médias/medianas, foram usados os testes t pareado e de Wilcoxon, respectivamente. Foram considerados significativos valores de $p \leq 0,05$. **Resultados:** Não houve modificações no hemograma e na contagem de plaquetas ao se compararem os dois momentos do ciclo menstrual. Não houve diferença na expressão de CD41a, CD42a, percentual de plaquetas CD62P⁺ e na formação de APM ou APN. O dia médio do ciclo menstrual foi acompanhado de maior expressão de P-selectina e CD61 ($p = 0,05$ para ambos) na superfície plaquetária em relação ao segundo dia da menstruação. **Conclusão:** Os achados sugerem que no dia médio do ciclo há maior ativação plaquetária em relação ao segundo dia da menstruação, provavelmente desencadeada pelos níveis mais elevados de estrogênio nesse momento. Especula-se também que o CD61 e a IMF da P-selectina sejam marcadores mais sensíveis aos efeitos desse hormônio e menos sujeitos a interferências pré-analíticas.

197. PROTEIN S SHBG-LIKE DOMAIN IS ESSENTIAL FOR TFPI COFACTOR FUNCTION OF PROTEIN S

Rezende SM^a, Reglinska-Matveyev N^b, Andersson HM^b, Dahlback B^c, Crawley JTB^b, Lane DA^b, Om JA^b

^a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

^b Imperial College London, London, United Kingdom

^c Lund University, Lund, Sweden

Protein S is a cofactor for tissue factor pathway inhibitor (TFPI), acting on the acceleration of the inhibition of activated factor X (FXa). Its residue Glu226, located in TFPI Kunitz domain 3, is essential for enhancement of TFPI by protein S. However, to date, the complementary functional interaction site of TFPI on protein S is not known. To investigate this, the authors screened 44 protein S points, composite or domain swap variants spanning the whole protein S molecule, for their TFPI cofactor function using a thrombin generation assay. Of these variants, two protein S/growth arrest-specific 6 chimeras, with either the whole sex hormone-binding globulin (SHBG)-like domain (Val243-Ser635; chimera III) or the SHBG laminin G-type 1 subunit (Ser283-Val459; chimera I), respectively, substituted by the corresponding domain in growth arrest-specific 6, were unable to enhance TFPI function. The importance of the protein S SHBG-like domain (and its laminin G-type 1 subunit) for binding and enhancement of TFPI was confirmed in FXa inhibition assays and using surface plasmon resonance. In addition, protein S bound to C4b binding protein showed greatly reduced enhancement of TFPI-mediated inhibition of FXa compared with free protein S. It was shown that binding of TFPI to the protein S SHBG-like domain enables TFPI to interact optimally with FXa on a phospholipid membrane.

198. CÉLULAS ENDOTELIAIS CIRCULANTES ESTÃO AUMENTADAS EM PACIENTES COM SÍNDROME PÓS-TROMBÓTICA

Flores-Nascimento M, Mazetto BM, Custódio I, Orsi FLA, Annichino-Bizzacchi JM

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

Introdução: A síndrome pós-trombótica (SPT) é uma complicação comum apresentada pelos pacientes com trombose venosa profunda (TVP) de membros inferiores, caracterizada por dor, edema, prurido, parestesia, hiperpigmentação e/ou feridas. Resulta em significativa incapacidade e pacientes com SPT severa têm qualidade de vida comparável à de pacientes com câncer. Entre 20-50% dos pacientes com TVP proximal desenvolvem SPT e entre 5-10% deles têm SPT grave. O diagnóstico é baseado em sinais clínicos, e várias classificações têm sido aplicadas para definir a sua gravidade, apesar do ISTH recomendar o uso de escala Villalta. A fisiopatologia da SPT ainda não se encontra definida, mas a resposta inflamatória à trombose aguda e a fibrose das válvulas e paredes venosas parecem desempenhar um papel importante. Células endoteliais circulantes (CEC) são derivadas da parede vascular ou recrutadas a partir de medula óssea e têm sido relacionados à hemostasia, às plaquetas e às leucócitos, à interação à parede do vaso e à lesão endotelial. O aumento das CEC é observado na isquemia e n trauma vascular e tem sido associado a um potencial angiogênico. **Objetivo:** Analisar as CEC em pacientes com história prévia de TVP e SPT e compará-los com pacientes com TVP, mas sem SPT e controles. Também comparamos os níveis de CEC entre os pacientes com diferentes graus de severidade da SPT. Níveis de dímero-D e IL8 foram determinados no soro e plasma, respectivamente, por método turbidimétrico e nefelométrico. **Material e métodos:** As CEC foram determinadas em pacientes com SPT (n = 19), que foram subdivididos de acordo com a sua pontuação na escala Villalta, pacientes com DVT sem síndrome pós-trombótica (n = 9) e controles saudáveis (n = 19). Controles foram pareados aos pacientes com SPT por sexo, origem étnica e idade \pm cinco anos. Diferentes anticorpos foram incluídos para melhor detectar as CEC e dois painéis diferentes foram empregados na análise por citometria de fluxo (painel 1: CD45-, CD144+, CD31+, CD133-; painel 2: CD45-, anti-VEGFR2+, CD31+, CD133-). **Resultados:** Pacientes com SPT apresentaram aumento de CEC em comparação com os outros grupos e aqueles com SPT leve apresentaram maiores níveis de CEC com ambos os painéis em comparação com os pacientes sem SPT (p = 0,015; p = 0,019, respectivamente), bem como a CTR (p = 0,077, p = 0,040, respectivamente). Os pacientes com SPT moderada + grave apresentaram aumento de CEC com o painel 2 em relação aos pacientes sem SPT (p = 0,008) e CTR (p = 0,013). Células CD144+ estiveram ligeiramente aumentadas em pacientes com SPT moderada + grave em comparação com pacientes sem SPT (p = 0,054). Ambos IL8 (med = 21,85 vs med = 13,84 pg/mL, p = 0,011) e dímero-D (med = 0,475 vs med = 0,29 mg/L, p = 0,044) estiveram aumentados em pacientes com SPT em comparação com os sem SPT, respectivamente. Como as CEC poderiam ser derivadas da trombose venosa residual (RVT), também foram dicotimizamos os pacientes entre com e sem RVT. As CEC foram semelhantes entre os pacientes com e sem RVT. **Conclusão:** A SPT pode estar associada a níveis elevados de CEC, já que apresentam potencial angiogênico e podem estar aumentadas em situações de estresse oxidativo. Os nossos resultados podem sugerir que CEC poderiam participar da fisiopatologia da SPT mediada pelo endotélio. Os níveis elevados de dímero-D e IL8 podem indicar que os pacientes com SPT estavam experimentando uma condição pró-inflamatória.

199. CORRELAÇÃO ENTRE STNFR2 E RESISTÊNCIA À AÇÃO DA PROTEÍNA C ATIVADA (PCA) EM PACIENTES COM DOENÇA DE ALZHEIMER PORTADORES DO ALELO 4

Moreira PSS^a, Silva MVF^a, Goncalves GS^a, Faria MC^a, Borges KBG^a, Teixeira AL^b, Rios DRA^c, Duarte RCF^a, Sousa LP^a, Carvalho MDG^a

^a Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^c Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ), São João Del Rei, MG, Brasil

Introdução: A presença do alelo ϵ 4 do gene da apolipoproteína E (ApoE) é o principal fator de risco genético para desenvolvimento da doença de

Alzheimer (DA). Sabe-se que a ApoE é capaz de se ligar ao peptídeo β -amilóide (A β) e promover o clearance. No entanto, o alelo ϵ 4 leva à produção de uma isoforma da ApoE incapaz de promover o metabolismo adequado de A β e favorece a sua deposição nos neurônios. Esse é um evento-chave na patogênese e progressão da DA, além da coparticipação de processos inflamatórios e hemostáticos reportados por numerosos estudos como importantes fatores que exacerbam o processo neurodegenerativo. Dados ainda não publicados por nosso grupo apresentaram um número significativamente maior de idosos portadores de Alzheimer com resistência à PCA comparado com o grupo controle, o que lhes confere um estado de hipercoagulabilidade. Níveis plasmáticos de receptores solúveis de TNF- α (sTNFR1 e sTNFR2) têm sido reportados como indicadores de atividade inflamatória em pacientes com DA e com comprometimento cognitivo leve. **Objetivo:** O conhecimento da importância do alelo ϵ 4 na patogênese da doença de Alzheimer, bem como do link entre inflamação e hemostasia, motivou o presente estudo, que teve como objetivo investigar a possível correlação entre os processos inflamatório e hemostático em pacientes com DA portadores desse alelo. **Material e métodos:** Foram avaliados 35 pacientes com DA portadores de ϵ 4 e 30 não portadores desse alelo selecionados no Instituto Jenny de Andrade Faria (UFMG), por meio da determinação dos níveis plasmáticos dos receptores solúveis de TNF- α (sTNFR1 e sTNFR2) por Elisa. A resistência à ação da PCA foi determinada nesses pacientes por meio do teste de geração de trombina pelo método de CAT (Calibrated Automated Thrombogram), com e sem adição de PCA, seguido do cálculo do índice nAPCsr (normalized activated protein C sensitivity ratio). Os polimorfismos do gene da ApoE foram identificados por PCR-RFLP. Os resultados obtidos para ambos os parâmetros (inflamatório e hemostático) foram analisados por meio da correlação de Spearman (pacientes com DA e ϵ 4 versus não portadores do alelo). **Resultados:** Para os pacientes com DA e portadores de ϵ 4 foi encontrada uma forte correlação entre os níveis plasmáticos de sTNFR2 e o nAPCsr (p < 0,001; r = 0,808), cujo índice é indicativo de resistência à PCA. Nenhuma correlação foi observada entre os mesmos parâmetros para os pacientes não portadores de ϵ 4. **Conclusão:** Pode-se sugerir que a resistência à PCA exibida por pacientes com DA parece ser dependente do processo inflamatório e exacerbada pela presença do alelo ϵ 4, o que confirma o caráter desfavorável desse. Esse achado reforça a ideia de que distúrbios hemostáticos que favorecem a hipercoagulabilidade estão ligados também à patogênese da DA, uma condição que pode estar contribuindo para a progressão da doença. **Agradecimentos:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

200. AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE LESÃO ENDOTELIAL E INFLAMATÓRIOS EM PACIENTES COM DEMÊNCIA E SEM COMPROMETIMENTO COGNITIVO

Silva MVF^a, Goncalves GS^a, Faria MC^a, Borges KBG^a, Teixeira AL^b, Cícarini WB^a, Moreira PSS^a, Duarte RCF^a, Sousa LP^a, Carvalho MDG^a

^a Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa caracterizada por perda progressiva da função cognitiva. Sugere-se haver um componente vascular na patogênese da DA, visto que é relacionada a doenças vasculares, como hipertensão, aterosclerose e acidente vascular encefálico. É descrita ainda uma relação estreita entre DA e a presença de disfunções circulatórias cerebrais. Biomarcadores têm sido propostos como ferramentas úteis na compreensão do papel que lesões e processos inflamatórios no endotélio vascular desempenham na fisiopatologia da DA. A molécula de adesão intercelular-1 solúvel (sICAM-1) e o inibidor da via do fator tissular (TFPI) são elementos cuja concentração plasmática tende a se elevar por causa da lesão endotelial e os torna possíveis biomarcadores. De igual modo, os receptores solúveis de fator de necrose tumoral 1 e 2 (sTNFR1 e sTNFR2) têm sido descritos como marcadores importantes do processo inflamatório dependente de TNF em células endoteliais. **Objetivo:** Avaliar os níveis plasmáticos de TFPI, sICAM-1, sTNFR1 e sTNFR2 em pacientes idosos com DA, comprometimento cognitivo leve (CCL) e em indivíduos da

mesma faixa etária sem comprometimento cognitivo (controles).

Material e métodos: Foram avaliados 65 pacientes com DA e 55 com CCL, além de 30 indivíduos controles selecionados no Instituto Jenny de Andrade Faria (UFMG). Após diagnóstico de provável DA e CCL, procedeu-se à coleta das amostras de sangue. Os níveis plasmáticos de TFPI foram determinados por um *in-house* Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Elisa) e os níveis de TFPI foram expressos como porcentagens considerando um valor de 100% para a concentração medida em pool de plasmas normais. Os níveis plasmáticos de sICAM-1, sTNFR1 e sTNFR2 foram determinados por Elisa com kits comerciais. Os resultados foram analisados por meio dos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney após correção de Bonferroni e expressos como mediana e intervalo interquartil. **Resultados:** Os níveis plasmáticos de TFPI foram significativamente elevados em pacientes com DA em relação aos controles: 91 (39) vs 69 (23,5)%, $p = 0,0025$, enquanto os níveis plasmáticos de sICAM-1 foram significativamente aumentados nos pacientes com DA em relação aos indivíduos com CCL e controles: 360 (174) vs 298 (154,7) ng/mL, $p = 0,0091$; e 360 (174) vs 273,4 (109,3) ng/mL, $p = 0,0005$, respectivamente. Os níveis plasmáticos de sTNFR1 foram significativamente aumentados nos pacientes com DA tanto em relação aos com CCL quanto em relação aos indivíduos saudáveis: 2.020 (1.051) vs 1.313 (531) pg/mL, $p < 0,0001$; e 2.020 (1.051) vs 1.139 (506) pg/mL, $p < 0,0001$, respectivamente. Os níveis plasmáticos de sTNFR2 foram significativamente aumentados nos grupos com DA e CCL em relação aos indivíduos saudáveis: 8.015 (7.026) vs 2.901 (1.877) pg/mL, $p < 0,0001$; e 6.124 (4.544) vs 2.901 (1.877) pg/mL, $p < 0,0001$, respectivamente. Pelo método de Spearman, observou-se ainda uma correlação significativa entre os níveis plasmáticos de sICAM-1 e os níveis de sTNFR1 ($p = 0,029$; $r = 0,341$) e sTNFR2 ($p = 0,004$; $r = 0,435$) nos pacientes com DA. Não foi observada nos pacientes com CCL e nos indivíduos saudáveis. **Conclusão:** Os dados sugerem uma associação entre processo inflamatório e lesão endotelial na patogênese da DA, o que pode contribuir para o declínio cognitivo. **Agradecimentos:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

201. CORRELAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, NEUROTRÓFICOS E DE LESÃO ENDOTELIAL EM PACIENTES COM DOENÇA DE ALZHEIMER PORTADORES DO ALELO 4

Cicarini WB, Gonalves GS, Faria MC, Silva MVF, Duarte RCF, Moreira PSS, Borges KBG, Teixeira AL, Sousa LP, Carvalho MDG

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: Citocinas podem influenciar na produção de fatores neurotróficos, tais como GDNF (*Glial cell-derived neurotrophic factor*) e NGF (*Nerve growth factor*), assim como células imunes podem expressar receptores para fatores neurotróficos que estão envolvidos na regulação da resposta inflamatória. Níveis plasmáticos de receptores solúveis do fator de necrose tumoral α TNF- α (sTNFR1 e sTNFR2) têm sido descritos como indicadores de atividade inflamatória na doença de Alzheimer (DA) e em indivíduos com comprometimento cognitivo leve. Sabe-se que sTNFR1 e 2 são induzidos por TNF- α e são mais estáveis do que a própria citocina. Por outro lado, TNF- α aumenta a expressão de moléculas de adesão vascular e intracelular como o VCAM-1 (*Vascular cell adhesion protein 1*) e ICAM-1 (*Intercellular adhesion molecule 1*) no endotélio. Essas moléculas são marcadoras de lesão microvascular, cujos níveis plasmáticos estão elevados na DA. Alterações nos níveis plasmáticos de fatores neurotróficos têm também sido observados no contexto de doenças psiquiátricas ou neurodegenerativas. A presença do alelo $\epsilon 4$ do gene da apolipoproteína E (ApoE) é o principal fator de risco genético para desenvolvimento da DA e está envolvido no desenvolvimento do processo inflamatório subjacente à doença. **Objetivo:** Considerando o link entre processo inflamatório, fatores neurotróficos e lesão endotelial, bem como os achados não consistentes da literatura que aborda tais aspectos, investigar a relação entre processo inflamatório, fatores neurotróficos e lesão endotelial na doença de Alzheimer. **Material e métodos:** Foram avaliados 35 pacientes com DA portadores de $\epsilon 4$ e 30 não portadores deste alelo selecionados no Instituto Jenny de Andrade Faria (UFMG), por meio da determinação por Elisa dos níveis plasmáticos dos receptores solúveis de TNF- α (sTNFR1 e sTNFR2), sICAM-1, GDNF e NGF. Os polimorfismos do gene da ApoE foram identificados por PCR-RFLP. Os

resultados obtidos foram analisados por meio da correlação de Spearman (Pacientes com DA e $\epsilon 4$ versus não portadores do alelo). **Resultados:** Para os pacientes com DA e portadores de $\epsilon 4$ foram observadas correlações bastante significativas entre os níveis plasmáticos de sTNFR1 e GDNF ($p = 0,045$; $r = 0,389$), sTNFR1 e NGF ($p < 0,001$; $r = 0,425$); sTNFR2 e sICAM-1 ($p = 0,032$; $r = 0,458$); sTNFR2 e GDNF ($p < 0,001$; $r = 0,681$), cujas correlações não foram observadas no grupo de pacientes com DA não portadores de $\epsilon 4$. Porém, não foram encontradas diferenças significativas entre os níveis desses marcadores entre os grupos estudados. **Conclusão:** Os dados do presente estudo, aliados aos da literatura, sugerem que o processo inflamatório está associado à ocorrência de lesão endotelial na DA. Do mesmo modo, observou-se uma correlação entre o processo inflamatório e os fatores neurotróficos, o que provavelmente é resultante de mecanismo compensatório contra a neurodegeneração promovida pela inflamação. **Agradecimentos:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: DOENÇAS DE PLAQUETAS

202. AVALIAÇÃO DE PLAQUETOPATIAS ATRAVÉS DE AGREGOMETRIA POR TRANSMISSÃO DE LUZ

Franzem JV, Faulhaber GAM

Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brasil

Introdução: As plaquetas têm importante papel na manutenção da hemostasia. Alterações em número ou função plaquetária representam riscos de hemorragia. A agregometria por transmissão de luz (LTA) é o teste mais comumente usado para avaliação funcional das plaquetas e usa painéis de agonistas que levam à detecção de patologias, principalmente as hereditárias. **Objetivo:** Revisar os casos encaminhados para avaliação por agregação plaquetária de um laboratório de referência de Porto Alegre (RS). Identificar os principais diagnósticos e comparar com o padrão de agregação frente aos diversos agonistas usados. **Material e métodos:** Foram avaliados 485 pacientes encaminhados para avaliação de sangramento anormal de junho de 2011 a dezembro de 2013. A análise estatística foi feita por software SPSS 16.0 e a comparação entre os agonistas por teste ANOVA. **Resultados:** Dos pacientes, 69,5% eram do sexo feminino. Agregação plaquetária normal foi diagnosticada em 196 pacientes (40,4%). Os distúrbios mais frequentes foram: doença de von Willebrand (18,9%), síndrome de Bernard Soulier (2,7%), trombostenia de Glanzmann (0,6%), déficit do pool de estocagem (9,4%), defeito de COX-1 (15,4%). **Conclusão:** A LTA é uma importante ferramenta para investigação laboratorial de pacientes com suspeita de distúrbios plaquetários.

203. PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IDIOPÁTICA CRÔNICA EM ADULTO TRATADA COM ESPLENECTOMIA – RELATO DE CASO

Camerin GR, Menin MF, Silva JBCB

Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A púrpura trombocitopênica idiopática (PTI) crônica consiste em uma afecção autoimune com rara remissão na qual anticorpos antiplaquetários aceleram a destruição das plaquetas no sistema retículo-endotelial, principalmente no baço. Em geral, acomete adultos jovens. Quando sintomática, apresenta sinais e sintomas de plaquetopenia como petéquias, equimoses e sangramentos em geral. O diagnóstico laboratorial deve excluir outras doenças que cursam com redução numérica de plaquetas, como algumas infecções virais e neoplasias hematológicas, e é feito por meio da contagem dessas e da dosagem de IgG ligada à plaqueta. Inicialmente, o tratamento deve ser clínico. No entanto, em casos refratários, se faz necessária a remoção cirúrgica do baço. **Objetivo:** Comparar a literatura científica existente sobre PTI crô-

nica com o caso relatado e descrever sua evolução clínica e similaridade com o que já se é conhecido sobre a patologia em questão. **Material e métodos:** Análise do prontuário do paciente em questão. **Relato do caso:** Paciente, 52 anos, masculino, com queixa de aparecimento de petéquias e equimoses. Encaminhado para esclarecimento da etiologia das manifestações, apresentava plaquetopenia de 4 mil/mm³, FAN superior a 1/640, sorologias negativas para Hepatites B e C, HIV, dengue e eritograma e leucograma normais. Diagnosticado com PTI refratária ao uso de corticosteroides (sensível, mas dependente) e imunoglobulina. O processo se tornou crônico. Foi encaminhado para esplenectomia, com boa resposta, sem mais episódios de sangramentos e manifestações cutâneas. **Discussão:** O paciente apresenta o quadro clínico clássico da PTI. No entanto, a corticoterapia não foi eficaz. Foi necessária administração de imunoglobulina endovenosa. Em função disso, optou-se pelo procedimento cirúrgico para retirada do baço, o qual gerou elevação numérica das plaquetas. De acordo com a literatura, cerca de 10-20% dos pacientes evoluem para a cronicidade e a maioria dos pacientes com PTI pode seguir apenas com observação clínica. Outros tratamentos clínicos válidos discutidos na literatura como o uso de outros imunossuppressores como vincristina ou vimblastina e de rituximabe não foram usados, já que a normalização da contagem plaquetária pela vincristina e pela vimblastina é pouco duradoura e o rituximabe é uma droga cara e ainda não usada pelo SUS. **Conclusão:** No tratamento da PTI, esplenectomia é a principal conduta usada em pacientes refratários aos corticosteroides, uma vez que o baço é o órgão responsável pela maior porcentagem de sequestro e destruição de plaquetas. Outras drogas são menos eficazes ou de difícil acesso.

204. PSEUDOTROMBOCITOPENIA – RELATO DE CASO

Souza IP^a, Arruda ABL^a, Lemes RPC^a, Machado RPC^b, Machado CMG^a, Arruda AAL^a, Mendona RC^a, Ferreira CMS^a, Castro MF^a, Azevedo MDCS^a, Melo PAM^a

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

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: A pseudotrombocitopenia é uma alteração caracterizada por uma falsa contagem diminuída de plaquetas em amostras de sangue colhidas com ácido etilendiaminotretacético (EDTA). Essa alteração ocorre *in vitro* e consiste na aglutinação de plaquetas induzida pelo EDTA a temperatura ambiente. A pseudotrombocitopenia representa um problema clínico de grande importância, uma vez que pode levar um indivíduo com uma contagem normal de plaquetas ser considerado como se tivesse trombocitopenia grave, o que resulta em solicitação desnecessária de exames laboratoriais, procedimentos cirúrgicos cancelados e conduta terapêutica inadequada, incluindo a transfusão de plaquetas e até mesmo a esplenectomia. **Objetivo:** Relatar um caso de pseudoplaquetopenia induzida por EDTA observado em uma mulher de 65 anos que não tinha histórico de problemas de sangramento e não havia história familiar de distúrbios hemorrágicos, considerada uma paciente saudável. **Relato de caso:** O hemograma com EDTA como anticoagulante apresentou plaquetopenia (40 x 10³/mm³) e leucocitose (16 x 10³/mm³). O exame microscópico do esfregaço de sangue periférico revelou agregação plaquetária significativa. A paciente foi convidada a retornar ao laboratório para uma nova coleta de amostra de sangue para o hemograma com o uso como anticoagulantes do EDTA e do citrato de sódio a 3,5%. Foram feitos esfregaços sanguíneos sem EDTA, com EDTA e com citrato e feitas análises microscópicas dos esfregaços de sangue periférico, que revelaram agregação plaquetária expressiva com EDTA. Isso não foi visualizado no esfregaço com citrato de sódio. Além disso, as amostras foram analisadas imediatamente após a coleta, uma hora e quatro horas após coleta no aparelho automático Micro 60 ABX. Observou-se que a amostra com EDTA apresentou uma diminuição da contagem de plaquetas e aumento do número de leucócitos, enquanto que na amostra com citrato os resultados do número de plaquetas e leucócitos não apresentaram alterações significativas, o que confirmou o diagnóstico de pseudoplaquetopenia. **Conclusão:** A contagem de plaquetas apresentou-se mais correta para amostra coletada em citrato de sódio. A análise microscópica do esfregaço periférico ofereceu evidências de pseudotrombocitopenia por apresentar presença significativa de grumos plaquetários na lamina com EDTA.

205. IMPACTO DO TRANSPORTE DAS AMOSTRAS NO RESULTADO DA AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA

Silva CRSSA, Martins ECS, Daniel DC, Oliveira PD, Braga JM, Leones APG, Pintao MC

Setor de Hemostasia, Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A avaliação laboratorial da função plaquetária é dependente de rigorosos cuidados pré-analíticos que envolvem transporte com mínima agitação e atenção ao tempo de estabilidade máxima das amostras. Em nosso grupo, a coleta de exames é feita em unidade de atendimento distante do setor técnico e o transporte é feito por carro em horários pré-agendados. Esse processo implica limitação de agenda, lentidão na chegada das amostras e elevação do custo do exame. O uso de moto como meio de transporte tem sido evitado por causa do maior potencial de agitação das amostras, porém seu impacto na qualidade dos resultados nunca foi objetivamente testado. **Objetivo:** Avaliar se os resultados do teste de agregação plaquetária em amostras transportadas por moto são comparáveis àqueles obtidos em amostras transportadas por carro. **Materiais e métodos:** Amostras de 40 voluntários, dois por dia, foram coletadas na unidade de atendimento de acordo com as orientações técnicas atuais: punção atraumática, em tubo de citrato 3,2%. Foram coletados seis tubos por doador, separados em dois lotes enviados simultaneamente à unidade técnica, um por moto e outro por carro. Todas as amostras foram envoltas em plástico bolha e acondicionadas em temperatura ambiente na caixa de transporte. Na unidade técnica, as amostras foram processadas e analisadas de acordo com os protocolos já estabelecidos no setor. As amostras foram centrifugadas para obtenção de plasma rico em plaquetas diluído para 200.000 plaquetas/mm³ em plasma pobre em plaquetas do mesmo paciente. A agregação plaquetária foi avaliada após a adição de agonistas específicos, pela metodologia de transmissão de luz, no equipamento aggRAM[®] (Helena Lab.), e expressa em porcentagem máxima de agregação final. Foram usados os seguintes agonistas: ristocetina 1,2 mg/mL (RIST1,2) e 0,5 mg/mL (RIST0,5), ADP 10,0 µM (ADP 10) e 2,5 µM (ADP 2,5), colágeno 5 µg/ml (COL5) e 1 µg/mL (COL1), epinefrina 2 µM (EPN) e ácido aracônico 500 µg/mL (ACA). A análise estatística foi feita no programa EP Evaluator[®] e o critério de aceitação das metodologias como equivalentes foi estabelecido em 1/3 do erro total (15%). Os resultados foram também analisados em relação ao impacto clínico de acordo com as faixas de normalidade por agonista. **Resultados:** Quando comparadas as médias das porcentagens de agregação final por agonista, os resultados foram semelhantes nas amostras transportadas por carro em comparação com as amostras transportadas por moto (média ± desvio padrão, respectivamente): RIST1,2: 87% ± 6% para ambos os métodos; RIST0,5: 6% ± 6% para ambos os métodos; ADP10: 85% ± 7% e 85% ± 9%; ADP2,5: 60% ± 23% e 59% ± 23%; COL5: 88% ± 8% e 87% ± 10%; COL1: 75% ± 19% e 72% ± 22%; EPN: 82% ± 13% e 79% ± 17%; ACA: 87% ± 6% para ambos os métodos. Quando os resultados foram avaliados individualmente, houve variação em relação ao valor de referência para os agonistas ADP10 (um caso), COL5 (um caso), COL1 (três casos) e EPN (três casos). **Conclusão:** Embora na comparação das médias os resultados tenham sido semelhantes, não podemos ignorar as variações detectadas na comparação individual, uma vez que podem influenciar a interpretação clínica dos resultados. Para melhor avaliação desses resultados o número de casos será ampliado.

206. PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IMUNE REFRAATÁRIA RESPONSIVA A ELTROMBOPAG – RELATO DE CASO

Machado ES, Fachin SM, Zanini MF, Rigo SR

Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC), Joinville, SC, Brasil

Introdução: Púrpura trombocitopênica imune (PTI) é uma doença caracterizada por plaquetopenia que podendo ou não manifestar-se com sangramentos. O tratamento inicial inclui corticosteroides ou imunoglobulina intravenosa. **Relato de caso:** Paciente de 34 anos, sexo feminino, procurou atendimento em serviço de hematologia (HEMOSC) em Joinville, com diagnóstico de PTI crônica. Apresentava manifestações atuais de equimoses espontâneas, sem sangramentos maiores. Chega para atendimento já com histórico prévio de aproximadamente 12 meses, em outro município. Recebeu, durante esse período, vários tratamentos, entre os quais corticoides e imunoglobulina humana, com res-

postas positivas, porém fugazes. Nessa primeira consulta, apresentava 13.000 plaquetas. Foi encaminhada ao hospital de referência da região, para acompanhamento e tratamento. Sorologias para hepatites virais e HIV não reagentes. Recebeu tratamento com pulsoterapia de metilprednisolona, sem resposta duradoura, foi submetida a esplenectomia nessa mesma internação. Seis meses após a cirurgia, seguia assintomática, sem sangramentos, porém com níveis de plaquetas abaixo de 30.000. Com isso, foi feita nova biópsia de medula óssea (BMO) e mielograma, com medula óssea normocelular para a idade, discreta hipoplasia da série eritrocítica, dismegacariopose e positividade dos seguintes anticorpos: glycoforin A, mieloperoxidase, CD34, CD117. Pesquisa de monossomia/deleção do cromossomo 7 negativa. Iniciou-se a terapia com eltrombopag (Revolade®) 50 mg/dia. No primeiro controle, em quatro semanas, houve elevação das plaquetas para 283.000. A dose foi reduzida para 25 mg/dia. **Resultados:** Paciente segue acompanhamento no serviço, com excelente tolerabilidade ao tratamento, e mantém a contagem plaquetária acima de 100.000/mm³, até o presente momento. **Discussão:** PTI refratária é definida como trombocitopenia persistente e grave, necessidade permanente de tratamento para aumentar e manter a contagem de plaquetas ou falta de resposta à esplenectomia. Plaquetas inferiores a 30.000 ou sintomas de hemorragia são indicativos de PTI refratária ao tratamento. O eltrombopag é um agonista do receptor de trombopoietina que estimula a produção de plaquetas. Estudos demonstraram significativa redução de sangramentos nos pacientes com PTI tratados com eltrombopag, que leva a importante benefício clínico quando comparado aos corticoides e reduz o risco dos efeitos colaterais. A meta no manejo da PTI é manter um nível adequado de plaquetas com o mínimo possível de intervenção medicamentosa ou cirúrgica e procurar reduzir a taxa de sangramentos, além de evitar efeitos colaterais das drogas usadas no controle da doença. Assim, o eltrombopag surge como opção capaz de gerar pouco a nenhum efeito colateral e atingir as metas de tratamento de forma segura. **Conclusão:** O tratamento com eltrombopag em portadores de PTI crônica refratária deve ser considerado. Pois nesse caso foi observado o aumento da produção de plaquetas após quatro semanas de uso. Este relato corrobora diversos estudos e demonstra desfecho favorável no tratamento com eltrombopag na PTI refratária aos tratamentos de primeira e segunda escolha, como glicocorticoides, imunoglobulina e esplenectomia.

207. DOENÇA RENAL CRÔNICA NA INFÂNCIA: EXPRESSÃO DE P-SELECTINA E GPIIB/IIIa COMO MARCADORES DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA

Silva RMME^a, Sousa LPN^a, Freitas LC^a, Nunes FFC^a, Pinheiro SVB^b, Soares CMBM^b, Silva ACSE^b, Dusse LMS^a

^a Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A progressão da doença renal crônica (DRC) em crianças está associada à exacerbação da inflamação e da hemostasia, o que contribui para a elevada taxa de mortalidade e morbidade, especialmente em consequência de doenças cardiovasculares. Os mecanismos de sinalização celular que guiam os processos de coagulação e inflamação são complexos e estão intimamente relacionados. Sabe-se que as plaquetas participam tanto do mecanismo hemostático como da regulação da inflamação. A P-selectina (CD62P) e a GPIIb/IIIa (CD41a) constituem glicoproteínas da membrana das plaquetas, usadas como marcadores de ativação plaquetária. A P-selectina é encontrada nos grânulos alfa das plaquetas e nas células endoteliais. Após a ativação plaquetária, a P-selectina é rapidamente distribuída para a superfície, liga-se a receptores de neutrófilos e monócitos e promove o recrutamento desses para os sítios inflamatórios. A GPIIb/IIIa está constitutivamente presente nas plaquetas e tem a função de se ligar a moléculas de fibrinogênio e promover a agregação plaquetária. A ativação plaquetária estimula a translocação da GPIIb/IIIa para a membrana e aumenta sua capacidade de agregação. Uma maior ativação plaquetária tem sido observada na DRC e estudos sugerem a participação das plaquetas na indução de lesão renal. **Objetivo:** Avaliar a grau de ativação plaquetária pela expressão de P-selectina e GPIIb/IIIa em crianças com DRC e em crianças saudáveis. **Material e métodos:** Foram avaliados três grupos: 1) 11 crianças com DRC em estágio inicial (I e II); 2) 43 crianças com DRC em estágio pré-diálise (III) e 3) 52 crianças saudáveis (grupo controle). A expressão

de P-selectina e de GPIIb/IIIa nas plaquetas dessas crianças foi avaliada por citometria de fluxo e os resultados expressos em intensidade média de fluorescência (MFI). **Resultados:** Uma diminuição da expressão de P-selectina foi obtida nas crianças com DRC em estágio inicial e naquelas em estágio pré-diálise em comparação com o grupo controle ($p = 0,0013$ e $p = 0,0001$, respectivamente). Para a expressão de GPIIb/IIIa não houve diferença significativa entre os grupos estudados. **Discussão:** Sabe-se que a P-selectina é expressa, após estímulo inflamatório, pelas plaquetas e células endoteliais. Uma vez expressa, promove o recrutamento de neutrófilos e monócitos e favorece a participação desses na resposta inflamatória. **Conclusão:** Como as crianças com DRC, tanto em estágio inicial como em estágio pré-diálise, faziam uso de imunossuppressores, é possível inferir que esses contribuíram para a redução do processo inflamatório e, conseqüentemente, da expressão de P-selectina.

208. ELABORAÇÃO DA POLÍTICA NACIONAL DE ATENÇÃO INTEGRAL ÀS COAGULOPATIAS HEREDITÁRIAS: RELATO DE EXPERIÊNCIA SOBRE A UTILIZAÇÃO DE METODOLOGIA PARTICIPATIVA NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE

Leister GA^a, Rossi SS^b, Ferreira JC^a, Melo HT^a

^a Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados, Ministério da Saúde, Brasília, DF, Brasil

^b Coordenação Geral de Gestão de Pessoas, Ministério da Saúde, Brasília, DF, Brasil

Introdução: O Sistema Único de Saúde (SUS) tem como uma das diretrizes constitucionais a participação da comunidade. Imbuída dessa perspectiva, a Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados (CGSH) do Ministério da Saúde, em parceria com o Coletivo MS, considerando a missão institucional da CGSH de "desenvolver políticas que promovam o acesso da população brasileira à atenção hematológica e hemoterápica com segurança e qualidade", realizou em abril de 2014 o Fórum de Discussão de Políticas para Qualificação e Melhoria da Assistência em Coagulopatias, com o objetivo de debater e sistematizar as contribuições dos usuários, profissionais da assistência hematológica e gestores federais e estaduais da hemorrede para a elaboração da portaria que instituirá, no âmbito do SUS, a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Coagulopatias Hereditárias (Pnac). **Objetivo:** Relatar a experiência da metodologia participativa usada no Fórum. A perspectiva teórico-conceitual é a problematização de Paulo Freire. **Material e métodos:** O percurso metodológico foi dividido em três fases: planejamento das oficinas, execução das oficinas no Fórum e avaliação da metodologia usada. A avaliação da metodologia baseou-se na técnica de análise do conteúdo proposta por Bardin. Durante o planejamento do Fórum, foram feitas reuniões com os facilitadores para os seguintes alinhamentos: discussão das questões disparadoras, orientação aos facilitadores sobre a metodologia participativa, organização da dupla de moderadores e formação de grupos heterogêneos. Os participantes foram organizados em cinco grupos, mediados por dupla de moderadores, que usaram a técnica de visualização móvel para sistematização das discussões, para a moderação dos processos grupais participativos e para a elaboração de síntese em cada grupo de trabalho, seguida de compartilhamento das proposições dos grupos em plenária. **Resultados:** Foi possível avaliar que a metodologia participativa usada favoreceu a troca de experiências entre os participantes e possibilitou esclarecimentos sobre os temas discutidos. Além disso, projetou-se como importante ferramenta para o delineamento e a sistematização de discussões coletivas. Como a participação social é um dos pilares do SUS, essa condução de metodologia participativa é importante tecnologia a ser usada amplamente no âmbito de elaboração de políticas públicas em saúde. Outro resultado importante foi a responsabilização dos envolvidos e o reconhecimento deles como agentes potentes de transformação da realidade, que se entendem como parte desse processo, e não apenas como receptores e agentes passivos. Ainda se observou que a parceria feita entre o Coletivo MS e a CGSH no desenvolvimento do Fórum mostrou-se como importante articulação institucional. **Conclusão:** A programação do evento e a metodologia aplicada foram adequadas, suficientes e coerentes com a construção coletiva de proposições para a elaboração da Pnac. Propiciaram a inclusão de diversos atores sociais envolvidos e interessados na consecução dessa política pública de saúde no âmbito do SUS.

209. A EDUCAÇÃO DE PACIENTES COM HEMOFILIA ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DE METODOLOGIAS ATIVAS DE ENSINO. RELATO DE UMA EXPERIÊNCIA

Ferri RNS^a, Mandola MB^a, Filho IF^a, Fujiki RHM^a, Pugliesi TB^a, Goncalves MA^a, Júnior JMA^b, Santos EAD^c, Cliquet MG^a

^a Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

^b Baxter Health Care, Deerfield, Estados Unidos

^c Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: Com o advento de novas terapêuticas médicas, doenças que antigamente eram fatais foram se cronicando. Contudo, o maior tempo de convivência com a doença controlada não é sinônimo de boa qualidade de vida. Um exemplo de doença crônica é a hemofilia, uma patologia hereditária do sistema de coagulação geneticamente ligada ao cromossomo X, marcada pela deficiência de fatores de coagulação específicos. No caso dos hemofílicos, os níveis de qualidade de vida estão intimamente relacionados ao conhecimento do paciente acerca de sua morbidade, à atenção disponibilizada pela equipe multidisciplinar e à terapêutica adotada. Com o fim de incrementar a qualidade de vida desses pacientes, o uso de metodologias ativas, como a aprendizagem baseada em problemas (ABP), é uma excelente opção para o aprimoramento dos conhecimentos desses pacientes, que leva ao melhor manuseio da doença. **Objetivo:** Atualizar o conhecimento de hemofílicos sobre a doença de base por meio de metodologia ativa ABP e avaliar o treinamento desenvolvido. **Relato da experiência:** O projeto foi feito com três pacientes, com idade mínima de 18 anos, com diagnóstico de hemofilia A grave, e ainda a equipe médica, de enfermagem, e alunos da Liga de Hematologia da Faculdade. Usando um problema construído pela equipe, visando a atingir objetivos de aprendizagem pré-determinados, foi feita uma sessão de tutoria (abertura e de fechamento de problema). Todos os objetivos foram contemplados. Além disso, uma apresentação teórica sobre o sistema de coagulação e uma atividade prática com membro superior de um manequim, simulando a autoaplicação de fator VIII, foram feitas. A sessão teve uma duração aproximada de quatro horas e teve como resultado a possibilidade de troca de informações entre a equipe e os pacientes. Foram abordadas pelos pacientes questões relativas às dificuldades sociais, de trabalho, convívio, atividades físicas, vantagens da profilaxia que todos estavam fazendo havia pelo menos um ano, com uma menor frequência de sangramentos, melhor qualidade de vida e ainda menos limitações de vida cotidiana. Dúvidas quanto às perspectivas de tratamentos no futuro também foram abordadas. No fim, cada um dos participantes fez uma análise crítica da atividade e essa foi considerada extremamente valiosa para a aquisição de conhecimento pelos alunos, profissionais da equipe e principalmente pelos pacientes, que era o objetivo maior deste trabalho.

210. APLICAÇÃO DO ÍNDICE DE PLAQUETAS IMATURAS (IPF) EM PLAQUETOPENIAS

Soares PB^{a,b}, Pereira KN^{a,b}, Andrade SF^{a,b}, Doleski PH^a, Bertoldo TMD^{a,b}

^a Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

^b Hospital Universitário de Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

Introdução: Os contadores hematológicos automatizados de células vêm sofrendo uma evolução tecnológica muito grande nos últimos anos. O uso de novos princípios de medição, como, por exemplo, a determinação de plaquetas por citometria de fluxo fluorescente (plaquetas óticas), além dos progressos informáticos, tem melhorado significativamente a eficiência analítica, bem como aumentado a quantidade de informação fornecida. Com isso, torna-se necessário dar aplicação aos novos parâmetros que se tornaram disponíveis por meio dessas tecnologias. Diversos índices plaquetários estão disponíveis nessas novas tecnologias. Entre eles podemos citar o IPF (índice de plaquetas imaturas), que fornece uma contagem de plaquetas reticuladas. Plaquetas reticuladas são formas mais jovens de plaquetas circulantes que têm como principal característica a presença de RNA mensageiro residual e de retículo endoplasmático rugoso, com capacidade de sintetizar pequenas quantidades de proteínas de grânulos alfa. As plaquetas reticuladas são mais reativas do que as plaquetas maduras e correspondem aos reticulócitos da série vermelha. A quantidade de plaquetas reticuladas (valores de referência de 1% a 6%) está relacionada com a velocidade da

trombocitose e cresce com a produção aumentada de plaquetas e diminui quando a produção cai. Estudos demonstram que, em geral, quanto maior a plaquetopenia, maiores os valores de IPF. Além disso, é possível diferenciar a causa da trombocitopenia em algumas patologias que pode indicar falha da medula óssea (IPF baixo) ou aumento da produção por causa do aumento do consumo ou da destruição periférica (IPF alto). **Objetivo:** Avaliar a associação entre a quantidade de plaquetas em pacientes com contagem inferior a 100 mil plaquetas/mm³ com o valor do IPF. **Material e métodos:** Foram analisados os resultados da contagem de plaquetas e o IPF de 49 pacientes atendidos no laboratório de hematologia do Hospital Universitário de Santa Maria. A quantificação das plaquetas e o IPF foram feitos em aparelho Sysmex XE-5000. Para avaliação do IPF, os pacientes foram divididos em quatro grupos, de acordo com a contagem de plaquetas. Grupo 1: 0-25 mil plaquetas/mm³, grupo 2: 26-50 mil plaquetas/mm³, grupo 3: 51-75 mil plaquetas/mm³ e grupo 4: 76-100 mil plaquetas/mm³. **Resultados:** O grupo 1 apresentou média de contagem de plaquetas 13 ± 8 mil/mm³ e média dos IPFs de 22,3 ± 11%; o grupo 2 apresentou média de 41,1 ± 8 mil/mm³ de plaquetas e 14,6 ± 9,6% para os IPFs; no grupo 3, a média de plaquetas foi de 64,2 ± 6,7 mil/mm³ e 11,5 ± 3,7% a média dos IPFs; no grupo 4, a média para contagem de plaquetas foi 88,1 ± 7,4 mil/mm³ e 13,6 ± 4,3% a média dos IPFs. Sendo assim, a maior média dos IPFs foi encontrada no grupo 1, grupo dos pacientes com menor contagem de plaquetas. As diferenças entre os IPFs médios entre o grupo 1 e grupo 3, bem como entre o grupo 1 e grupo 4, foram consideradas significativas (p < 0,05). **Conclusão:** O valor de IPF deve ser avaliado para cada paciente com plaquetopenia, mas aqui apresentamos uma associação geral entre as plaquetas baixas e esse índice.

211. IDENTIFICAÇÃO DE QUATRO NOVAS MUTAÇÕES RELACIONADAS AO DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME DE BERNARD SOULIER

Siqueira LH^a, Beltrame MP^b, Costa-Lima CS^a, Medina SS^a, Ozelo MC^a

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

^b Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A síndrome de Bernard-Soulier (SBS) é uma doença hemorrágica hereditária, autossômica recessiva, causada por mutações nos genes das glicoproteínas (GP) da membrana plaquetária GP Ib alpha, GP Ib beta e GP IX. O complexo GP Ib-IX-V é o receptor plaquetário para o fator de von Willebrand (FVW) e está envolvido na adesão das plaquetas ao endotélio. **Objetivo:** Avaliar as mutações envolvidas no diagnóstico da SBS. **Material e métodos:** Foram avaliados casos com diagnóstico confirmado de SBS atendidos desde 1998 no Hemocentro da UNICAMP (Campinas/SP) e no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná (Curitiba/PR). O diagnóstico foi baseado na presença de sangramento cutâneo-mucoso e macrotrombocitopenia. Foi confirmado pelo teste de agregação plaquetária com ristocetina e citometria de fluxo das glicoproteínas plaquetárias GP Ib alfa (CD 42b), GP Ib beta (CD 42c) e GP IX (CD 42a). Foram coletadas amostras de sangue periférico para extração do DNA genômico dos pacientes e seus parentes. A análise molecular foi feita por sequenciamento automático direto dos genes GP1BA, GP1BB e GP9. **Resultados:** Desde 1998 foram confirmados o diagnóstico de 29 casos não relacionados de SBS atendidos nos dois serviços. As mutações relacionadas ao diagnóstico de 21 desses casos foram anteriormente relatadas por nosso grupo. Foram identificadas oito mutações, seis não descritas anteriormente. Neste estudo, foram incluídos mais oito casos não relacionados, dos quais seis apresentavam história de consanguinidade. Entre esses casos índices foram identificadas cinco mutações, quatro não descritas (GP1BA p. Gly490GlyFs47; GP1BB p.S6N, p.G9E, p.L72R). A mutação **nonsense** GP1BA p. Gly490GlyFs47, resultante da del. G na posição 1516 do cDNA, foi encontrada em homozigose em uma criança de oito anos com caso grave de sangramento recorrente. Quatro casos aparentemente não relacionados apresentaram a mesma mutação na GP9 p.N45S já descrita anteriormente em uma família do norte da Inglaterra. **Conclusão:** A SBS é uma trombotopia rara, que cursa com história hemorrágica recorrente, frequentemente grave, e é comum a presença de consanguinidade. Este estudo compreende a maior casuística de SBS em nosso país. A determinação molecular desses casos, além de ser crítica para o aconselhamento genético correto, contribui para a melhor compreensão funcional das glicoproteínas envolvidas.

212. TRATAMENTO DE RESGATE COM ROMIPLOSTIM EM PACIENTE COM PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IMUNOLÓGICA REFRACTÁRIA – RELATO DE CASO

Pallota R, Cirlinas AM, Silva JO, Borducchi DMM

Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo Amaro, SP, Brasil

Introdução: A púrpura trombocitopênica imunológica (PTI) é um distúrbio imunológico no qual a produção de autoanticorpos induz a supressão ou apoptose de megacariócitos na medula óssea, ou mais frequentemente modulam a destruição periférica das plaquetas no fígado e no baço. Tal condição leva a uma plaquetopenia isolada e que se não está clinicamente associada a outra condição é denominada idiopática. Em adultos a PTI costuma ter início insidioso e aproximadamente 80% dos casos apresentam sintomas de sangramento ao diagnóstico e progridem para cronicidade. O tratamento tradicional visa a bloquear a destruição plaquetária, em especial com imunossuppressores como corticoides, padrão ouro de terapia inicial. Em pacientes com PTI refratária, pode-se tentar uma variedade de opções de tratamento, como azatioprina, ciclofosfamida, derivados da vinca, rituximab e esplenectomia. Porém, se essas opções não levam a um resultado satisfatório, restam poucas opções viáveis, entre elas o transplante de medula óssea. **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente com PTI crônica refratária que teve sucesso em responder a terapia com um novo agente modulador de trombopoetina (TPO). **Relato de caso:** Paciente MJCS, 70 anos, gênero feminino, cor parda, com antecedente pessoal de diabetes e hipertensão, iniciou tratamento no nosso serviço em junho de 2013, por causa de quadro de PTI. Deu entrada com equimoses, petéquias, gengivorragia e epistaxes, plaquetopenia periférica grave, entre 5.000 e 10.000 plaquetas/mm³, e hiperplasia megacariocítica na medula óssea. Tratamento com corticoide não teve resposta adequada e foi seguido de tratamentos com outros imunossuppressores, também sem sucesso. Foi feita esplenectomia em 19/11/2013. Sem resposta ao tratamento cirúrgico, foi usado rituximab (anti CD20) por quatro semanas, que não induziu incremento plaquetário satisfatório. Por causa da refratariedade do caso e da gravidade, foi iniciada em 28/02/2014 terapia de resgate com romiplostim (AMG531-Nplate). A dose inicial foi de 1 mg/kg com base no peso corporal real, posteriormente aumentada com o objetivo de alcançar níveis de plaquetas entre 50.000 e 200.000/mm³. Após infecção urinária, houve queda dos níveis plaquetários e necessidade de ajuste de dose do romiplostim até a dose máxima de 10 mg/kg, sem que a paciente apresentasse efeitos colaterais adversos. **Discussão:** O romiplostim pertence à classe dos miméticos da TPO, liga-se ao receptor da TPO e induz a fosforilação da tirosina de JAK2 e STAT5 em células BaF3-mMpl e a proliferação de células formadoras de colônias megacariocíticas. Estudos que comparam romiplostim com placebo e com terapias convencionais em pacientes com PTI demonstraram um maior e durador incremento plaquetário. O romiplostim também viabilizou a redução e até a suspensão da terapia para PTI que estava sendo usada e melhorou a qualidade de vida dos pacientes. **Conclusão:** O romiplostim foi bem tolerado e eficaz, aumentou e manteve as plaquetas em números normais em paciente com plaquetopenia grave e refratária ao tratamento convencional. Permite dispensar todos os outros imunossuppressores, em especial o corticoide, que é deletério, principalmente para ela, que é diabética e hipertensa.

213. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS AO DIAGNÓSTICO EM PACIENTES COM PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IMUNE ATENDIDOS NO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA SAÚDE DA PUC-SP

Andrade FC^a, Leão LHSMF^a, Romero PC^a, Filho EPA^a, Zanutto MG^a, Dib P^a, Santos EAD^b, Ferrari G^a, Pasuld F^a, Cliquet MG^a

^a Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

^b Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: A púrpura trombocitopênica imune (PTI) é uma desordem imunomediada que se caracteriza pela trombocitopenia isolada, causada por autoanticorpos antiplaquetários. Pode ser secundária a uma doença de base ou ter caráter idiopático. **Objetivo:** Traçar o perfil clínico dos pacientes com PTI atendidos no Serviço de Hematologia da FCMS-PUC-SP. **Material e métodos:** Estudo descritivo longitudinal baseado na coleta de dados dos prontuários de 79 pacientes em seguimento no Ambulatório de Hematologia da FCMS-PUC-SP diagnosticados de 1994 a 2013. Foi feita a avaliação descritiva e estatística dos dados levantados, por meio dos testes

de Mann-Whitney e do t teste. **Resultados:** Entre os pacientes estudados 74,68% eram do sexo feminino e 25,31% do masculino. Quanto à idade ao diagnóstico, a média foi de 35,75 anos, mediana de 34 (mín. = 2; máx. = 81). Entre os 72 pacientes classificados, 22 (30,55%) apresentavam PTI secundária a uma doença. O lúpus eritematoso sistêmico (LES) foi a mais prevalente (27,27%). Foram classificados como PTI primária 69,44%. Em relação à contagem plaquetária inicial, o valor médio foi de 76.524,05/mm³, mediana de 49.000/mm³ (mín. = 3.000/mm³; máx. = 437.000/mm³). A ocorrência de sangramentos foi mencionada por 66 (83,54%) pacientes. Os mais citados foram: equimose por 51 pacientes, gengivorragia por 29 e petéquias por 28. A análise estatística não apontou significância entre o sexo e o número de plaquetas iniciais (p = 0,2937). No entanto, há tendência significativa entre plaquetas iniciais e a média etária ao diagnóstico (p = 0,0549), o que mostra que quanto mais jovem a população, menor o nível plaquetário. **Conclusão:** Observamos que o predomínio feminino da população estudada foi semelhante ao relatado na literatura e que a população jovem apresentou menor contagem plaquetária.

214. AVALIAÇÃO SOROLÓGICA PARA HELICOBACTER PYLORI EM PACIENTES COM PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IMUNE

Leão LHSMF, Andrade FC, Romero PC, Filho EPA, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A púrpura trombocitopênica imune (PTI) se caracteriza pela produção de autoanticorpos contra glicoproteínas presentes na superfície plaquetária e leva a um quadro de plaquetopenia isolada. A desordem imunológica pode ser idiopática ou secundária a: doenças autoimunes (como o lúpus eritematoso sistêmico e a síndrome antifosfolípide), doenças linfoproliferativas e infecções, como HIV e hepatite C. Existem relatos de que a PTI pode estar relacionada com a infecção por *Helicobacter pylori*, por causa da reação cruzada entre a proteína cagA (expressa em algumas cepas bacterianas) e glicoproteínas presentes nas plaquetas, por causa do mimetismo molecular. Assim, a presença dessa bactéria pode se associar a um menor nível plaquetário. **Objetivo:** Avaliar a sorologia da *Helicobacter pylori* em pacientes com PTI que são acompanhados no Ambulatório de Hematologia da FCMS/PUC-SP com contagem plaquetária inferior a 100.000/mm³. **Material e métodos:** Estudo transversal descritivo em que foram selecionados pacientes com PTI em acompanhamento no Ambulatório de Hematologia da FCMS/PUC-SP com contagem plaquetária inferior a 100.000/mm³. Por meio de contato via telefone, os pacientes foram convocados a comparecer ao nosso serviço, a fim de coletar as amostras de sangue que seriam analisadas quanto à presença de IgM contra a *H. pylori* pelo método Elisa. No fim, foi feita a análise estatística por meio do teste de Mann-Whitney. **Resultados:** Dos 79 pacientes em seguimento no nosso serviço, 31 (39,24%) apresentavam número de plaquetas inferior a 100.000/mm³. Desses, apenas 12 (38,7%) compareceram na data estipulada para coleta do material. Quanto ao resultado da sorologia para IgM, nove (75%) foram não reagentes e três (25%) reagentes. A mediana do nível plaquetário dos pacientes com sorologia positiva foi de 60.000/mm³ e se mostrou inferior à dos pacientes com sorologia negativa (65.500/mm³), porém não houve significância estatística entre o nível plaquetário e sorologia positiva (p = 0,3052). **Discussão:** A sorologia positiva encontrada nos pacientes acompanhados em nosso serviço, que indicou infecção pela *H. pylori*, foi bastante inferior à que é vista na literatura para pacientes com PTI: apenas 25% dos nossos pacientes apresentavam sorologia positiva, enquanto na literatura a prevalência bacteriana, avaliada pelo teste da urease pós endoscopia digestiva alta (EDA), é de 65%, fato que pode ser explicado pelo tamanho reduzido da nossa amostra. **Conclusão:** Embora não possamos ter uma avaliação precisa da atividade dessa bactéria nesses pacientes, por não oferecermos o exame de EDA, ainda foi possível comparar a mediana do nível plaquetário, que se mostrou inferior nos pacientes com sorologia positiva quando comparada com a dos pacientes com sorologia negativa.

215. AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO DE PACIENTES COM PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IMUNE

Leão LHSMF^a, Andrade FC^a, Filho EPA^a, Romero PC^a, Assis JR^a, Santos EAD^b, Pasuld F^a, Ferrari G^a, Goncalves MA^b, Cliquet MG^a

^a Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

^b Conjunto Hospitalar de Sorocaba, Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: A púrpura trombocitopênica imune (PTI) é caracterizada por um quadro de trombocitopenia isolada. Manifesta-se por hemorragias,

como petéquias, equimoses, menorragia e gengivorragia. Apresenta maior prevalência na faixa entre 18-40 anos e no sexo feminino. Pode ser de causa primária ou secundária a alguma doença, como lúpus eritematoso sistêmico (LES), síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAF), hepatite C e HIV. Tratamentos clínico e cirúrgico são adotados a fim de diminuir os eventos hemorrágicos e elevar a contagem plaquetária. A terapia de escolha continua a ser o uso de glicocorticoides. No entanto, outros fármacos, como azatioprina, ciclofosfamida, rituximabe, danazol, vincristina e imunoglobulina humana, também podem fazer parte da escolha terapêutica, especialmente em casos não responsivos à terapia inicial. Para casos refratários, há a opção de esplenectomia, com índice de remissão completa da doença em 60%, como descrito na literatura. **Objetivo:** Avaliar a resposta ao tratamento de pacientes com PTI em acompanhamento no Ambulatório de Hematologia da FCMS-PUC/SP. **Material e métodos:** Estudo descritivo longitudinal que avaliou 79 pacientes acompanhados no Ambulatório de Hematologia da FCMS-PUC/SP. Foi feita a análise estatística dos dados por meio dos testes Kruskal-Wallis, do qui-quadrado e correlação de Spearman. Receberam algum tipo de tratamento medicamentoso 65 pacientes (83%). Todos usaram, em algum momento, glicocorticoides. A azatioprina foi usada em 40% dos pacientes; a imunoglobulina humana em 12%; ciclofosfamida e rituximabe em 1,5% cada. **Resultados:** Dos pacientes submetidos ao tratamento, 38 (67,85%) apresentaram resposta completa (nível plaquetário superior a 100.000/mm³), 12 (21,42%) apresentaram resposta parcial (nível plaquetário entre 30.000 e 100.000/mm³ ou valor plaquetário final o dobro do inicial) e seis (10,71%) não obtiveram resposta (nível plaquetário inferior a 30.000/mm³ ou valor plaquetário final não atingiu o dobro do inicial). Quanto à esplenectomia, 12 pacientes foram submetidos a esse procedimento cirúrgico e cinco (41,66%) evoluíram com remissão completa da doença. **Discussão:** Não houve significância estatística entre o tempo de tratamento e a resposta obtida ($p = 0,6256$), como também entre o nível plaquetário final e o tempo de tratamento ($p = 0,8946$). As relações contagem plaquetária inicial e resposta ao tratamento ($p = 0,8621$), sexo e resposta ao tratamento ($p = 0,6182$) e idade e resposta ao tratamento ($p = 0,1529$) também não demonstraram significância estatística. **Conclusão:** Os valores encontrados em nosso serviço se assemelham aos descritos na literatura, com exceção do resultado observado após a esplenectomia, em que cerca de 40% dos pacientes apresentaram remissão completa, valor menor do que o da literatura. Essa distorção pode ser explicada pela pequena amostragem de pacientes do nosso serviço submetidos a essa cirurgia.

216. VACINAÇÃO CONTRA RUBÉOLA FEITA DURANTE A GESTAÇÃO COMO PROVÁVEL CAUSA DE PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IMUNOLÓGICA. RELATO DE UM CASO

Andrade FC, Filho EPA, Leão LHASMF, Romero PC, Zanutto MG, Assis JR, Goncalves MA, D'Ávila VLNB, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A púrpura trombocitopênica imune (PTI) consiste na produção de autoanticorpos contra as proteínas presentes na superfície plaquetária. É a causa mais comum de trombocitopenia isolada assintomática em adultos. A desordem autoimune pode ser de causa idiopática ou secundária a doenças linfoproliferativas, doenças autoimunes e infecções. Há relatos na literatura de PTI secundária à vacinação, especialmente contra hepatite B, que acomete principalmente a população pediátrica. **Relato de caso:** T.R.M.S., sexo feminino, branca, 32 anos, encaminhada ao Ambulatório de Hematologia da FCMS-PUC/SP por plaquetopenia, descoberta em rotina pré-natal, G3P2c0A, DPP: 05/05/09. Recebeu vacinação contra rubéola quando não tinha conhecimento da gestação. Referiu equimoses e lesões ulceradas em boca que surgiram após a segunda gestação. Trouxe exames prévios das últimas semanas que apontavam níveis plaquetários de 8.000/mm³ e 13.000/mm³, o que a levou a receber transfusão plaquetária de 4.000 U, que elevou a contagem para 24.000/mm³. Trouxe sorologias: rubéola IgG 46 UI/mL (reagente), IgM 0,085 UI/mL (não reagente); toxoplasmose IgG 300 UI/mL (reagente), IgM 0,139 UI/mL (não reagente); HbsAg não reagente e anti-HIV não reagente. Ao interrogatório dos diversos aparelhos referiu cefaleia, tontura, dor óssea e muscular, que piorava aos movimentos, e inchaço nos pés e mãos. Sem demais queixas. Ex-fumante de dois maços/dia, havia 17 anos. Negou comorbidades. Ao exame: BEG, corada, hidratada, eupneica, acianótica, anictérica e afebril, PA: 120 x 70 mmHg, BRNF a

dois tempos, sem sopros. MV presente bilateralmente sem ruídos adventícios. Abdome gestante, sem demais alterações. MMII: edema +/4+. Hemograma: Hb = 13,7 g/dL, Ht = 42,6%, VCM = 90,1 fL; HCM = 29 pg; Leucócitos = 8.065/mm³ e plaquetas = 21.000/mm³. Durante a gestação, necessitou de internação hospitalar para controle plaquetário, após o parto iniciou tratamento com prednisona. **Conclusão:** O diagnóstico de PTI é feito por exclusão. Após investigação por hemograma, provas reumatológicas e sorologias, a trombocitopenia pode ser definida como idiopática. No presente caso, o único evento causal associado foi a vacinação contra rubéola feita durante a gestação. Embora seja difícil comprovar a relação entre a vacinação prévia e a trombocitopenia, há casos documentados na literatura que estabelecem correlação entre a administração de vacinas com antígenos virais, como hepatite B e tríplice viral (SCR), e o aparecimento de PTI, ocorrência mais frequente em pacientes pediátricos.

217. ÍNDICES PLAQUETÁRIOS: INTERVALOS DE REFERÊNCIAS EM DIFERENTES ANALISADORES HEMATOLÓGICOS AUTOMATIZADOS

Farias MG, Bó SD

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

Introdução: Os índices plaquetários em associação com a morfologia plaquetária são importantes para o diagnóstico e a classificação de trombocitopenias hereditárias. São usados no controle de transfusões de plaquetas na trombocitopenia neonatal e como preditores de tromboembolismo venoso e são importantes biomarcadores em doenças cardiovasculares. Muitos fatores pré-analíticos ou analíticos podem levar a variações nas suas medidas, como anticoagulante usado, ativação de plaquetas *in vitro*, intervalo entre a coleta e análise, técnica (impedância ou óptica), calibração do equipamento ou os interferentes celulares. Assim, cada equipamento apresenta seus próprios valores de normalidade para VPM e PDW. Não há uma calibração universal externa, o que torna impossível comparar resultados entre os centros, a menos que cada laboratório determine e informe os valores para sua população e seu equipamento. Em nossa instituição a cada novo equipamento usado na rotina é determinado o intervalo de referência (IR) dos índices plaquetários para nossa população, para oferecer os valores de VPM e PDW adequados e proporcionar uma interpretação correta pela equipe médica. **Objetivo:** Demonstrar a variabilidade dos IR dos índices plaquetários nos diferentes analisadores hematológicos usados. **Materiais e método:** Os valores de VPM e PDW foram determinados em diferentes momentos de acordo com o equipamento usado. Os critérios de inclusão do estudo foram: pacientes adultos ambulatoriais, de ambos os sexos, hematologicamente normais, dentro dos critérios de triagem da nossa instituição. Os IR foram calculados a partir dos percentis 25-75%, de acordo as recomendações do International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Amostras de sangue venoso coletadas com K₂EDTA foram processadas dentro de duas horas após a coleta no analisador hematológico. Excluíram-se aquelas que apresentaram dados clínicos relevantes ou alterações morfológicas plaquetárias após a observação das distensões sanguíneas coradas com May-Griwald-Giemsa. Os equipamentos Pentra DX 120 e Sysmex XE 2100 usam o princípio da impedância e ADVIA 2120i o método óptico. **Resultados:** Foram avaliados 277 pacientes adultos de ambos os sexos no equipamento Pentra DX ABX. Os valores de normalidade apresentados como mediana e percentis 25% e 75% foram: plaquetas: 249 x 10⁹/L; VPM 8% (6,5-9,5); PDW: 13,3% (9,5-18,3); Sysmex XE 2100, 299 pacientes, plaquetas: 234 x 10⁹/L; VPM 10,9% (10,3-11,4); PDW: 12,9% (11,5-13,8); Sysmex XE 5000, 122 pacientes, plaquetas: 231 x 10⁹/L; VPM 10,2% (9,6-11,0); PDW: 12% (11,0-13,0) e Advia 2120i, plaquetas: 234 x 10⁹/L; VPM 7,3% (6,8-7,9); PDW: 54,2% (49,2-59,8). **Conclusão:** Nossos resultados comprovam a variabilidade nos valores de normalidade dos parâmetros plaquetários entre os equipamentos. O equipamento ADVIA 2120i foi o que apresentou menor valor de VPM como *threshold* para macroplaquetas > 7,9. Nos demais analisadores as plaquetas com esse valor seriam consideradas normais. Hospitais públicos que compram por processos licitatórios e frequentemente necessitam trocar equipamentos devem ter alguns cuidados quanto à variabilidade dos parâmetros plaquetários. Assim, cada laboratório deve determinar o seu próprio IR, instrumento e método específicos, para evitar interpretações equivocadas referentes à presença de macroplaquetas.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: DOENÇAS DE COAGULAÇÃO E FIBRINÓLISE

218. DEFICIÊNCIA CONGÊNITA DO FATOR V NO HEMOPE – RELATO DE CASO

Moraes EAS, Vanderlei AM, Correia MCB, Araújo MAAL, Almeida CBV

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

Introdução: Deficiência congênita do FV é um distúrbio de coagulação raro, com prevalência de 1:1000.000 pessoas, descoberta por Owren em 1947 e denominada para-hemofilia.^{1,2} É uma doença autossômica recessiva com mais de 60 mutações documentadas na literatura³ e expressão fenotípica variável para mesma mutação, nível antigênico e atividade do FV.³ **Objetivo:** Relatar um caso de deficiência do FV no HEMOPE. **Relato de caso:** Paciente masculino, dois anos, admitido no HEMOPE em 1993 com sangramento importante após trauma em língua. Tinha história familiar de gengivorragia e consanguinidade. Apresentava anemia (Hb: 5,4/Ht: 17,7), TP/TPa prolongados (55/262s), teste da mistura positivo, FV de 4% (VR: 70 a 120%) com valores normais dos seguintes fatores da coagulação: I, II, VII, VIII, IX e X. Genitora e irmão apresentavam INR/TPa prolongados (1,3/35,1s e 1,42/37,7s, respectivamente). O FV da genitora era normal e não houve possibilidade de dosar o do irmão e do genitor. Feito diagnóstico de deficiência congênita de FV e infusão de PFC, com melhoria do sangramento. Apresentou outros episódios de sangramentos, como: mucoso, cutâneo, muscular, hemoartrose e hematúria controlados com PFC, exceto após exodontia controlada com curativo compressivo e antifibrinolíticos. Em 1997 foi internado após trauma facial para maior suporte transfusional. Atualmente, apresenta inibidor de FV (0,2UB) e sorologias virais negativas. **Discussão:** O FV é um cofator não enzimático sintetizado no fígado responsável pela ativação da protrombina em trombina.^{1,2} Na deficiência heterozigota do FV, o sangramento em geral ocorre após trauma e cirurgia, enquanto na homozigota é espontâneo ou após trauma nos primeiros anos de vida. O TP e TTPa são prolongados e corrigidos com teste da mistura e a dosagem do FV é inferior a 70%,¹ apesar de a maioria ser inferior a 1%. A opção terapêutica para reversão de sangramentos e profilaxia é a reposição do FV. Como não existe produto com FV isolado, a correção é feita com PFC.³ Para correção e prevenção de sangramentos, 15-20 mL/kg de PFC são suficientes para manter o nível sérico de FV acima de 20%. Para sangramento mucoso leve, os antifibrinolíticos podem ser eficientes. Opções terapêuticas ao PFC são o FVIIr e o CCPa, principalmente na presença do inibidor do FV,¹ encontrado em 3% dos casos.

Referências:

- Huang JN, Koepner MA. Factor V deficiency: a concise review. *Haemophilia*, 2008;14(6):1164-9.
- Owren PA. Parahaemophilia: haemorrhagic diathesis due the absence of a previously unknown clotting factor. *Lancet*, 1947;1(6449):446-8.
- Bafunno V, Favuzzi G, Pierro T, Chetta M, Mastrodicasa E, Chinni E, et al. Coinheritance of three novel FV gene mutations in a patient with a severe FV deficiency. *Haemophilia*. 2012;18(2):43-59.
- Peyvandi F, Mannucci PM. Rare coagulation disorders. *Thromb Haemost*. 1999;82(4):1207-14.
- Mannucci PM, Duga S, Peyvandi F. Recessively inherited coagulation disorders. *Blood*. 2004;104(5):1243-52.
- Acharya SS, Coughlin A, DiMichele DM, North American Rare Bleeding Disorder Study Group. Rare bleeding disorder registry: deficiencies of factors II, V, VII, X, XIII, fibrinogen, and dysfibrinogenemias. *J Thromb Haemost*. 2004;2(2):248-56.
- Ardillon L, Lefrançois A, Gravelleau J, Fouassier M, Ternisien C, Sigaud M, et al. Management of bleeding in severe factor V deficiency with a factor V inhibitor. *Vox Sanguinis*. 2014;107(1):97-9.

219. INFG AND TGFB1 GENE POLYMORPHISMS: INFLUENCE OF THE INHIBITOR DEVELOPMENT IN SEVERE HEMOPHILIA A

Alencar JB^a, Macedo LC^a, Barros MF^b, Rodrigues C^a, Shinzato AH^a, Pelissari CB^c, Machado J^c, Sell AM^a, Visentainer JEL^a

^a Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brazil

^b Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Foz do Iguaçu, PR, Brazil

^c Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (HEMEPAR), Curitiba, PR, Brazil

Patients with hemophilia A (HA) receive therapy with exogenous factor VIII (FVIII), and some patients may develop alloantibodies (inhibitors) against the FVIII during the therapy. The inhibitor can induce more complications in the patients, mainly in severe HA. The development of inhibitors is known to involve several immune mechanisms and genetics polymorphisms. The aim of this study was to investigate a possible association of cytokine genes polymorphisms in regulatory regions and the risk of FVIII inhibitor development in patients with severe HA. The polymorphisms in regulatory regions of cytokine genes were investigated (*IL1A*, *IL1B*, *IL1R*, *IL1RA*, *IL4RA*, *IL12*, *INFG*, *TGFB1*, *TNF*, *IL2*, *IL4*, *IL6*, *IL10*) that could influence the development of inhibitors in 117 patients (35 developed inhibitors) with severe HA registered in Hemovida web-coagulopathies in the Paraná State, Brazil. Blood samples were collected and the DNA was extracted by salting-out method. The genotyping of cytokine genes was performed by PCR-SSP (Invitrogen kit Cytokines[®], USA). The allelic, genotypic, and haplotypic frequencies were calculated by direct counting and compared using Fisher's exact test. When comparing the allelic frequencies of cytokine genes between the groups, an increased frequency of the T allele of *INFG* in patients with inhibitor was observed ($p < 0.05$, OR = 1.85, CI = 1.04-3.30). This profile provides a high production of pro-inflammatory cytokine IFN- γ , which is responsible to stimulate a response against FVIII. These data also showed that 42.9% and 23.2% of patients with and without inhibitors, respectively, were TT homozygous at *TGFB1* +869T > C ($p < 0.05$, OR = 2.48, CI = 1.07-5.78). In addition, when the frequency of TG/TG of *TGFB1* was evaluated, it was observed that it was increased in patients with inhibitors ($p < 0.05$, OR = 2.48, CI = 1.07-5.78). Nevertheless, the frequency of the *TGFB1* (+869, +915) CG haplotype in patients with inhibitors was decreased, when compared with the patients without inhibitors ($p < 0.05$, OR = 0.531, CI = 0.29-0.96). TGF- β is an immunoregulatory cytokine that modulates the interaction between T cells and other cells. Thus, these results suggest that patients who did not develop inhibitors have a protector genotype, which leads to intermediary production of the immunoregulatory cytokine TGF- β 1, and patients who have developed inhibition presented a genotype featuring production of greater levels of TGF- β 1. Another recent study did not obtain significant associations with these same genes. Polymorphisms in the *IL10* and *TNF* α genes have been extensively studied in association with the inhibitor risks in HA patients. However, no significant results were found that agree with other Brazilian cohort studies. This difference could be due to a large number of mixed-race individuals in Brazil, which confers a different genotypic profile between Brazilians and other countries. In conclusion, it can be inferred that the polymorphisms in *INFG* are related to increased risk of developing inhibition, while the genotypes of *TGFB1* genes varied between susceptibility and risk. This research was performed to contribute to a genetic profile of the individual HA for the risk of FVIII inhibitor development, in order to provide better therapeutic targeting to these patients.

220. PERFIL DOS PACIENTES COM SUSPEITA DE TROMBOFILIA ATENDIDOS EM UMA CLÍNICA DE HEMATOLOGIA DO MUNICÍPIO DE TUBARÃO (SC)

Castilho LJC, Baldessar MZ, Iser BPM, Silva RB

Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Tubarão, SC, Brasil

Objetivo: Avaliar o perfil dos pacientes com suspeita de trombofilia. **Material e método:** Estudo transversal com análise de prontuários de janeiro de 2007 a julho de 2013. **Resultados:** Entre os 72 pacientes com suspeita de trombofilia, 79,20% eram do sexo feminino e a média de idade foi de 43,8 anos (DP \pm 15,8). Os eventos trombóticos foram encontrados em 56,90% dos pacientes, 53,70% trombose arterial e 56,10% trombose venosa. Os fatores associados mais frequentes foram: histórico familiar (40,30%); uso de anticoncepcional oral (38,90%) e tabagismo (22,20%). Verificou-se abortamento de repetição em 31,94% dos pacientes. A presença da mutação para o fator V de Leiden esteve presente em 34,70%; deficiências de proteínas C em 15,30%, antitrombina III em 15,30% e a deficiência de proteína S em 23,60%. O anticorpo anticardiolipina esteve presente em 5,60%. A deficiência de antitrombina III esteve presente em 40% dos pacientes do sexo masculino e em 37,5% dos tabagistas. Foi detectada a presença do fator V de Leiden em 93,3% dos pacientes do gênero masculino. **Conclusão:** O perfil do paciente é do sexo feminino, média

de idade de 43,8 anos; predomínio de eventos trombóticos venosos; história familiar positiva; história de aborto prévio; uso de anticoncepcional oral e tabagismo. Os achados laboratoriais mais prevalentes foram a presença do fator V de Leiden, as deficiências de proteínas C e S e deficiência de antitrombina III.

221. THE MOLECULAR BASIS OF LOW ACTIVITY LEVELS OF COAGULATION FACTOR VII: A BRAZILIAN COHORT

Rabelo F^a, Jardim LL^a, Landau MB^b, Gadelha T^c, Corrêa MFB^d, Pereira IFM^a, Rezende SM^a

^a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

^b Hospital Naval Marcílio Dias, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^c Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^d Prefeitura Municipal de Contagem, Contagem, MG, Brazil

Inherited factor VII (FVII) deficiency is the most common of the rare bleeding disorders. It is transmitted as an autosomal recessive inheritance, due to mutations in the FVII gene (F7). Molecular studies of FVII deficiency are rare in non-Caucasian populations. The aim of this study was to evaluate the molecular basis behind low levels of FVII activity (FVII:C) levels in a cohort of Brazilian patients. A total of 34 patients with low FVII levels were clinically evaluated and submitted to laboratory tests; among these, prothrombin time and FVII:C, with different thromboplastins. All exons and intron/exon boundaries of F7 were amplified and sequenced. A total of 14 genetic alterations were identified, of which six were previously described; c.1091G > A, c.1151C > T, c.-323_-313insCCTATATCCT, c.285G > A, c.525C > T, c.1238G > A, and eight were new (54.0%) c.128G > A, c.252C > T, c.348G > A, c.417G > A, c.426G > A, c.745_747delGTG, c.843G > A, and c.805+52C > T. In addition to the mutation c.1091G > A, known as FVII Padua, the mutation c.1151C > T also presented discrepant FVII:C levels when tested with human and rabbit brain thromboplastin. There was no association between phenotype and genotype. Most of the identified genetic alterations found were polymorphisms. It was concluded that low levels of FVII:C in this population were mostly related to polymorphisms in F7 and associated with a mild clinical phenotype. Mutation c.1151C > T was associated with discrepant levels of FVII:C using different thromboplastins, such as reported with FVII Padua.

222. RELATO DE CASO DE DIAGNÓSTICO DE HEMOFILIA A EM PÓS-OPERATÓRIO DE CIRURGIA ORTÓPÉDICA APÓS UTILIZAÇÃO INADEQUADA DE TESTES DE COAGULAÇÃO COMO TRIAGEM PARA RISCO DE SANGRAMENTO CIRÚRGICO

Mendonça KB, Barbosa GGA, Silva LD, Alvarez B, Motroni RM

Hemocentro Regional de Nova Friburgo, Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Nova Friburgo, RJ, Brasil

Introdução: A solicitação de testes de avaliação da coagulação de forma indiscriminada é frequente no pré-operatório para estimar risco de sangramento. São solicitados TP (tempo de protrombina) e TTPa (tempo de tromboplastina parcial ativada), erroneamente interpretados como preditores de coagulopatia. Ambos os testes foram desenvolvidos para diagnosticar coagulopatias congênitas, como a hemofilia, e não para servir como métodos de triagem.¹ Relata-se o caso de um paciente hemofílico com testes de triagem inicialmente normais, sem investigação inicial de antecedentes, com derrame articular drenado cirurgicamente. **Relato de caso:** Paciente de 15 anos, masculino, do Estado do Rio de Janeiro, veio à emergência em 01/10/2013 com artralgia súbita e edema em joelho direito, sem relato de trauma. Exames solicitados na emergência demonstram TP: 64%, INR: 1,22 e TTPa: 1,00. Avaliado pelo ortopedista que optou por drenagem cirúrgica e manuseio de dreno intracavitário. O paciente persistiu com sangramento volumoso nos dias seguintes. Solicitada avaliação da hematologia no sexto dia de pós-op. Na coleta de história com familiares relataram-se eventos hemorrágicos prévios espontâneos e aumento articular recorrentes identificados pela mãe quando iniciou deambulação. Fora acompanhado por ortopedista (nos últimos 14 anos) até a data do procedimento cirúrgico. Identificado primo com hemofilia A moderada. **Resultados:** A nova avaliação laboratorial evidenciou TP: 76,8%, INR: 1,22 e TTPa: 2,39. Seguiu-se a investigação e observou-se Fator VIII em 6%, que caracterizou hemofilia A. Recebeu fator VIII com

elevação a 50% durante 14 dias e resolução do sangramento. Confirmou o diagnóstico de hemofilia A moderada sem identificação de inibidor, foi acompanhado no HEMORIO e recebeu fator VIII sob demanda. **Discussão:** O uso sem critério desses testes pode levar a erros diagnósticos que tanto atrasam cirurgias nos que não têm história sugestiva como autorizam intervenções cirúrgicas em pacientes com risco de sangramento. A coleta adequada da história clínica tem uma chance maior de predizer o risco hemorrágico de um paciente do que a coleta isolada e sem critério de TP e TTPa.² A sensibilidade e especificidade de ambos os testes é baixa e a ocorrência de falsos negativos e falsos positivos é comum.³ **Conclusão:** Observamos no caso relatado que TP e TTPa normais não excluem a presença de coagulopatias. Por isso, a valorização desses exames deve estar sempre embasada por anamnese detalhada, com coleta de história clínica pregressa e de histórico familiar.

Referências:

1. Van Veen JJ, Spahn DR, Makris M. Routine preoperative coagulation tests: an outdated practice? *Br J Anaesth.* 2011;106(1):1-3.
2. Chee YL, Crawford JC, Watson HG, Greaves M. Guidelines on the assessment of bleeding risk prior to surgery or invasive procedures. British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol.* 2008;140(5):496-504.
3. McPherson J. Tests of haemostasis detection of the patient at risk of bleeding. *Australian prescriber.* 1995;18(2):38-41.

223. RESULTADOS DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA NOS PACIENTES ACOMPANHADOS NO HEMORGS

Ferreira CB^a, Luz AC^a, Wisintainer SC^b, Diaz G^a, Ourique L^a, Bandinelli E^c, Silveira ASL^a, Calliari DS^a, Paula MLS^a

^a Hemocentro do Estado do Rio Grande do Sul (HEMORGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Hemocentro de Caxias do Sul (HEMOCS), Caxias do Sul, RS, Brasil

^c Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A hemofilia é uma coagulopatia hereditária caracterizada pela deficiência dos fatores VIII (hemofilia A) ou IX (hemofilia B). Tem padrão de herança autossômico recessivo ligado ao sexo e uma prevalência de 1:10.000 e 1:40.000 nascidos vivos do sexo masculino, respectivamente. O tratamento é baseado na reposição do fator deficiente, que deve ocorrer durante toda a vida, já que não existe cura. Uma das principais complicações dessa patologia é o desenvolvimento de inibidores (aloanticorpos da classe IgG) contra o fator VIII ou IX. Nesses casos, ocorre uma ausência de resposta à reposição do fator e o paciente apresenta sangramentos de difícil controle. O desenvolvimento desse inibidor é mais frequente na hemofilia A (cerca 5-30%) do que na B (1-5%) e mais comum nos pacientes com hemofilia grave (fator < 1% ou 0,01 UI/mL). Existem vários fatores associados ao desenvolvimento de inibidores, entre eles o tipo de mutação do paciente, a classificação HLA, a quantidade de concentrado de fator usada e a idade a primeira infusão. O tratamento de escolha para esses pacientes é imunotolerância (IT), que consiste no uso regular de altas doses do fator deficiente. Existem alguns protocolos para indução de IT e em 2011 o Ministério da Saúde (MS) lançou o protocolo brasileiro para IT. **Objetivo:** Avaliar a resposta dos pacientes com diagnóstico de hemofilia A e inibidor ao protocolo brasileiro de IT. **Material e métodos:** Estudo descritivo, retrospectivo, com análise dos dados clínicos e laboratoriais dos 10 pacientes participantes do protocolo de IT do MS no Estado Rio Grande do Sul. Foram avaliados idade de início do protocolo, tempo da presença do inibidor, pico histórico, uso de agentes de bypass, presença de acesso central e fatores de risco. **Resultados:** A média de idade de entrada dos pacientes no protocolo foi de oito anos, variação de 3-12 anos. O tempo médio decorrido entre o diagnóstico e o início do tratamento foi de quatro anos, variação de um a oito anos. O pico histórico médio foi de 64 UB, variação de 7 a 320 UB. Metade dos pacientes estava em uso concomitante de profilaxia secundária com Feiba para controle dos eventos hemorrágicos e apenas dois necessitaram de colocação de acesso venoso central. A maioria dos pacientes (60%) apresentava critérios de bom prognóstico e os demais algum critério de prognóstico reservado. Até agosto de 2014, quatro pacientes negatizaram o inibidor e estão aguardando avaliação de meia-vida, três apresentam inibidor inferior a 5UB e um desistiu do protocolo por dois episódios consecutivos de infecção do cateter. **Conclusão:** O protocolo de IT tem sido efetivo para os pacientes com inibidor avaliados neste estudo, com uma taxa de sucesso total de 40% e de sucesso parcial de 30% até o momento. Nenhum dos

pacientes atingiu ainda o tempo de tratamento para caracterizar falha terapêutica.

224. HEMOFILIA A ADQUIRIDA – RELATO DE CASO

Costa S^a, Almeida AB^a, Santos R^b, Oliveira MR^c, Moral JAGD^c, Moraes ACR^b

^a Programa de Residência Integrada Multiprofissional em Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

^b Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

^c Hospital Universitário, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Introdução: A hemofilia adquirida é uma coagulopatia rara, causada pela produção de autoanticorpos (inibidores) contra os fatores VIII (hemofilia A adquirida) e IX (hemofilia B adquirida) da coagulação. Desse modo, trata-se de uma doença autoimune, que pode ter origem idiopática ou associada a outras condições clínicas. De modo geral, as manifestações clínicas associadas à hemofilia adquirida ocorrem em indivíduos previamente assintomáticos e sem histórico familiar. Seu tratamento é um grande desafio, tanto do ponto de vista médico quanto do farmacoeconômico, por causa dos altos custos dos medicamentos usados. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente do gênero masculino, 67 anos, com diagnóstico de hemofilia A adquirida, que foi inicialmente encaminhado à emergência do hospital com suspeita de endocardite após um tratamento dentário. **Relato de caso:** No momento da admissão foram constatados hematomas e erupções cutâneas, o que levou à requisição de exames laboratoriais a fim de investigar uma provável coagulopatia, apesar da suspeita inicial. Os exames laboratoriais apresentaram um valor de TP (atividade de protrombina 97,5%; RNI 1) e dosagem de fibrinogênio (277 mg/dL) normais. No entanto, houve uma importante alteração no valor de TTPa (tempo 86,9s; relação 3,1) que não corrigiu com a adição de plasma normal, o que foi sugestivo de uma coagulopatia adquirida relacionada à presença de inibidores. Para confirmar a hipótese do diagnóstico de hemofilia A adquirida, foram solicitadas as dosagens de FVIII e de seu respectivo inibidor. A dosagem do FVIII apresentou um valor reduzido (0,3%), enquanto a dosagem do inibidor encontrava-se elevada (2.148 UB/mL), o que confirmou a hipótese de que o paciente era portador de hemofilia A adquirida gerada pela presença de autoanticorpos contra o FVIII. Sendo assim, o tratamento foi rapidamente iniciado e a terapia de escolha foi prednisona 70 mg/dia, porém não houve melhoria do quadro clínico do paciente. Desse modo, a terapia foi modificada para prednisona 20 mg/dia associada a ciclofosfamida 150 mg/dia e, novamente, o paciente não apresentou uma boa resposta (dosagem de FVIII 0%). Diante disso, a terapia foi novamente modificada (azatioprina 50 mg/dia associada a prednisona 20 mg/dia). No entanto, o paciente continuou sem apresentar melhoria dos sintomas clínicos e a dosagem de FVIII (0,2%) continuou baixa. **Conclusão:** Atualmente, o paciente está em uso de rituximab e aguarda nova avaliação clínica e laboratorial. Nota-se que o diagnóstico dessa coagulopatia rara pode ser um desafio para o corpo clínico, uma vez que seus sinais clínicos nem sempre são evidentes e podem ser confundidos com os de outras doenças. Além disso, percebe-se que o seu tratamento, além de dispendioso, pode exigir diversos ajustes, uma vez que ainda existem fatores desconhecidos e imprevisíveis que influenciam na resposta dos pacientes ao tratamento.

225. DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE INIBIDOR CONTRA FATOR VIII EM PORTADORES DE HEMOFILIA ATENDIDOS PELO CENTRO DE HEMOTERAPIA E HEMATOLOGIA DO ESTADO DO PIAUÍ – HEMOPI

Silva MDA, Bessa LSS, Conceição AMS, Mesquita AS, Silva HJN, Filho ACML, Coutinho LRS, Silva GMME

Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí (HEMOPI), Teresina, PI, Brasil

Introdução: A coagulação consiste em uma série de reações bioquímicas sequenciais que envolve a interação de proteínas, comumente referidas como fatores da coagulação, além de células e íons. Deficiências dos fatores da coagulação podem ocasionar doenças hemorrágicas (coagulopatias). A hemofilia A é uma coagulopatia congênita que está ligada ao cromossomo X, originada por uma deficiência na produção de fator VIII presente na coagulação sanguínea. Não tem cura e a sua base de trata-

mento é a infusão de concentrado de fator deficiente, que pode ser de origem plasmática ou recombinante. Uma das complicações mais temíveis dos pacientes com hemofilia A refere-se ao desenvolvimento de inibidores, que são anticorpos policlonais da classe IgG direcionados contra os fatores VIII. **Objetivo:** Verificar a frequência do aparecimento de inibidor nesses pacientes. **Material e métodos:** Teste de Bethesda (UB), que detecta a presença de inibidor contra o fator VIII. **Resultados:** Dos pacientes hemofílicos que residem no Piauí, 167 estão cadastrados no Ministério da Saúde, 62 são acompanhados periodicamente pelos hematologistas do HEMOPI e 35 obtiveram resultado positivo na pesquisa de inibidor. **Conclusão:** A frequência do aparecimento do inibidor no pacientes acompanhados pelo HEMOPI é maior do que 50%. Ainda não foi atingido o objetivo principal para o tratamento de inibidores. Portanto, mostra-se de suma importância à necessidade do desenvolvimento de uma solução terapêutica que extraia do plasma apenas inibidores do FVIII ou iniba sua formação.

226. TOLERÂNCIA AO FATOR VIII: PADRONIZAÇÃO DE PROTOCOLOS PARA O TRATAMENTO DAS COMPLICAÇÕES DA HEMOFILIA A

Silveira ACO^a, Ribeiro IG^b, Andrade MC^c, Faria AMC^d, Filho OAM^a, Chaves DG^e

^a Laboratório de Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração, Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Iniciação Científica, Fundação Hemominas, Belo Horizonte, MG, Brasil

^c Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES), Montes Claros, MG, Brasil

^d Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brasil

^e Serviço de Pesquisa, Fundação Hemominas, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A hemofilia A (HA) é um dos distúrbios hemorrágicos mais comuns com transmissão hereditária, resultante de deficiência ou defeito do fator VIII (FVIII) da coagulação sanguínea. A gravidade e a frequência das hemorragias nos pacientes com HA estão relacionadas à atividade do FVIII residual no plasma. O tratamento adequado da HA requer infusões de concentrados de FVIII derivado de plasma humano (pdFVIII) ou FVIII recombinante (rFVIII). De forma geral, 10-40% dos pacientes com HA apresentam inibidores capazes de inativar o FVIII. O FVIII infundido pode desencadear uma resposta imune humoral que induz a produção de anticorpos (inibidores) por células B estimuladas por células T CD4⁺. A presença desses anticorpos inibidores aumenta a dificuldade no tratamento da doença, pois interfere diretamente na atividade pró-coagulante do FVIII. Atualmente não existe terapêutica totalmente eficiente na eliminação da atividade inibitória desses anticorpos e nem na supressão da resposta que leva à produção desses. **Objetivo:** Padronizar um protocolo de tolerância ao FVIII com o objetivo de minimizar a produção de anticorpos anti-FVIII por camundongos deficientes de FVIII (Hemophilics A-FVIII- KO). **Material e métodos:** Camundongos FVIII- KO foram divididos em quatro grupos de cinco animais cada: grupo controle não imunizado (GC), grupo controle negativo (GN), grupo tratamento tipo 1 (GT1) e grupo tratamento tipo 2 (GT2). Os grupos GC e GN não receberam o tratamento proposto para induzir tolerância ao FVIII. Os grupos GT1 e GT2 foram tratados antes do início das imunizações. Os animais foram imunizados com três doses intravenosas na base da cauda, com intervalo de sete dias entre cada dose, com 200 µL de tampão fosfato-salino (PBS) para o grupo GN, 200 µL de pdFVIII em PBS (10 µg/mL) para os grupos GT1 e GT2. Transcorridos 30 dias após o início do protocolo de imunização, fez-se coleta de sangue periférico via retroorbital para detecção plasmática de anticorpos anti-FVIII por Elisa (IgG total) e detecção dos títulos de inibidores por Bethesda. Foi feita ainda excisão do baço para imunofenotipagem de leucócitos no contexto *ex-vivo* e dosagem de citocinas (IL-10, 1L-17A, TNF, IFN-γ, IL-6, IL-4 e IL-2) em sobrenadantes de cultura de esplenócitos com a técnica CBA (Cytometric Bead Array). **Resultados:** Em relação à avaliação plasmática por Elisa, nos grupos T1 e T2 observou-se uma maior produção de anticorpos anti-FVIII a partir da segunda dose de imunização quando comparado ao grupo GC. Na detecção dos títulos de inibidores por Bethesda, os grupos tratados pelo protocolo de tolerância (GT1 e GT2) apresentaram títulos significativamente inferiores quando comparados ao grupo não tratado. Na avaliação *ex-vivo* ocorreu uma redução do percentual da subpopulação de linfócitos CD8⁺MHC- II⁺ no grupo T1 quando comparado com o grupo T2. Com relação à dosagem de citocinas,

não foram observadas diferenças significativas entre os grupos tratados comparados com os grupos não tratados. **Conclusão:** Com base nesses achados preliminares, sugere-se que os tratamentos testados na padronização do protocolo de tolerância ao FVIII se mostraram eficientes ao minimizar a produção de anticorpos anti-FVIII e não alteraram significativamente o perfil de ativação celular e o balanço de citocinas nos animais testados.

227. USO DO PROTOCOLO ALEMÃO EM PACIENTE HEMOFÍLICO COM INIBIDOR DE ALTA RESPOSTA – RELATO DE CASO

Ferreira AMMS^a, Lima MDBPLV^a, Sobreira MI^a, Callado FMRA^a, Correia MCB^b, Rilhas GP^b, Vanderlei AM^a, Costa IM^a

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

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

Introdução: Alguns pacientes com hemofilia A (HA) podem desenvolver inibidores de Fator VIII (INIB FVIII), os quais inibem a atividade do fator administrado e dificultam o controle do sangramento. **Objetivo:** Apresentar caso clínico e enfatizar a importância da definição de protocolo de imunotolerância (IT) para o tratamento de inibidor em paciente hemofílico grave. **Relato de caso:** Paciente masculino, seis anos, em dezembro de 2005 foi encaminhado ao nosso serviço. Referiu equimoses em todo o corpo e história familiar positiva para HA. Foi diagnosticado em 2006 como hemofílico A grave com dosagem de INIB FVIII = 0,5 UB/mL. Após 10 meses do diagnóstico, apresentou quadro de perda de força no lado direito do corpo. Feita TAC de crânio que constatou hematoma subaracnóideo em região temporal esquerda. Foi infundido concentrado de Fator VIII (FVIII) em altas doses. No ano seguinte, sem novas exposições ao FVIII, apresentou dosagem de INIB FVIII = 19,7 UB/mL. Em janeiro de 2008 apresentou hematoma na panturrilha esquerda, período em que fazia uso de CCPA. Em fevereiro de 2010, dosagem de INIB FVIII = 57,6 UB/mL. Foi internado em junho desse mesmo ano com quadro de AVCH. Foi iniciada profilaxia secundária de longa duração com o FVIIr, sem novas intercorrências hemorrágicas. Apesar do uso do *bypass*, em abril de 2011 o nível do inibidor foi de 16 UB/mL. O paciente apresentou hemartroses e gengivorragias. O paciente foi incluído no Programa de Imunotolerância (IT) em outubro de 2012, apesar de não atingir os pré-requisitos preconizados pelo Ministério da Saúde (MS). Na ocasião, os exames laboratoriais evidenciaram INIB FVIII = 20,8 UB/mL, seguido de 256 UB/mL e 179 UB/mL, em dezembro de 2012 e março de 2013, respectivamente. Em virtude da permanência dos altos títulos de INIB FVIII e da evolução desfavorável do paciente com sangramentos, houve a necessidade da implantação de um protocolo mais adequado para o caso. Foi introduzido o protocolo alemão de IT (60 mg/kg/dia) em junho de 2013. No momento vem evoluindo com a diminuição progressiva dos níveis de inibidor de FVIII. A última dosagem em julho de 2014 apresentou resultado de 121,6 UB/mL. **Discussão:** A definição de um protocolo para a IT nos casos de desenvolvimento de inibidores de FVIII por hemofílicos A graves é um desafio em nível mundial. Esse caso exemplifica a importância da pesquisa de inibidores pelo método Bethesda modificado, a influência deles na evolução clínica, bem como as dificuldades de manuseio desses pacientes hemofílicos com inibidor de alta resposta. Apesar de o Programa de IT do MS vir sendo aplicado com sucesso na maioria dos casos, alguns pacientes não respondem bem ao protocolo. Necessita-se adequá-lo à realidade clínica do indivíduo, com base em outros protocolos. **Conclusão:** Estudos randomizados de enfoque molecular são necessários para melhor caracterização dos pacientes, de modo a garantir o acesso precoce aos protocolos e alterar a evolução clínica.

228. SÍNDROME COMPARTIMENTAL EM HEMOFILIA A COM INIBIDOR – RELATO DE CASO

Cruz LGAL, Renni MS, Marques APQA, Bonilha TA, Pessanha RB, Leite DB, Cerqueira MH

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira de Cavalcanti (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A hemofilia A é uma alteração hereditária da coagulação que apresenta como principal complicação o desenvolvimento de inibidores contra o fator VIII.¹ A presença de inibidores de alto título torna o tratamento de reposição ineficaz e é necessário o uso de agentes de *bypass*.

Os agentes disponíveis são: concentrado de complexo protrombínico ativado (CCPa) e Fator VII ativado recombinante (rFVIIa). Todavia, sabe-se que alguns sangramentos não são controlados com tais agentes e podem ocorrer situações graves, com risco de vida ou perda de um membro.² A avaliação da resposta ao tratamento deve ser rigorosa, para que seja considerada a necessidade de troca do esquema terapêutico – mudança da dose ou troca do produto. O efeito sinérgico dos agentes de *bypass* já foi relatado na literatura, com uso sequencial em situações de sangramentos não responsivos a cada produto isoladamente.^{2,3,4} **Relato de caso:** Paciente de nove anos, hemofílico A grave com inibidor de alta resposta e em tratamento de imunotolerância. Após punção venosa evoluiu com aumento do volume do braço e foi levado ao hemonúcleo de Campos somente quatro dias após. Apresentava sinais de síndrome compartimental no membro superior esquerdo e hipotensão arterial grave. Recebeu transfusão de hemácias e uma dose de 270 µg/kg de rFVIIa. Transferido para o HEMORIO, foi mantido o uso de rFVIIa (130 µg/kg a cada duas horas). Solicitado parecer à cirurgia vascular e foi feita fasciotomia de urgência. Evoluiu com sangramento importante na ferida operatória e sinais de choque hipovolêmico no pós-operatório. Na reavaliação pela equipe de cirurgia, foi identificado sangramento subcutâneo difuso e foram feitos cuidados locais de hemostasia. Como não houve melhoria, iniciou-se terapia sequencial com rFVIIa e CCPa. Doze a 24 horas após fasciotomia, manteve-se grave e instável hemodinamicamente. Foi feita transfusão de plasma, hemácias, plaquetas e crioprecipitado. Ainda apresentava sangramento intenso 36 horas após início da terapia sequencial, de modo que foi suspenso o esquema sequencial e mantido o uso isolado de CCPa (200 UI/kg/dia) por 72 horas. Evoluiu com menos instabilidade, ainda com grande necessidade transfusional. Foi novamente trocado o agente de *bypass* e associado antifibrinolítico. Doze horas após, apresentava-se sem sangramento. Após 48 horas da interrupção do sangramento foi feita troca do curativo, o que ocasionou retorno do sangramento. Aumentou-se a dose do rFVIIa para 180 µg/kg a cada duas horas, mas 24 horas após ainda apresentava sangramento intenso e instabilidade hemodinâmica. Foi necessária a transfusão de concentrado de hemácias, plasma e crioprecipitado e alterada a terapia de reposição para uso sequencial. Após 36 horas, verificou-se controle hemostático. Após sete dias foi suspenso o esquema sequencial e mantido o uso de rFVIIa (180 µg/kg) a cada três horas. Permanece hospitalizado com programação de ajuste de dose do agente de *bypass* de acordo com a cicatrização e os cuidados de reabilitação. **Palavras-chave:** Hemofilia; síndrome compartimental; terapia de *bypass*.

Referências:

1. Pacheco e Wolff. Ortopedia e fisioterapia em hemofilia. 1ª ed. São Paulo: Minha Editora; 2013. p. 171.
2. Gringeri A, Fischer K, Karafoulidou A, Klamroth R, López-Fernández MF, Mancuso, et al. Sequential combined bypassing therapy is safe and effective in the treatment of unresponsive bleeding in adults and children with haemophilia and inhibitors. Haemophilia. 2011;17(4):630-5.
3. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A. Guidelines for the management of hemophilia. 2013;19(1):e1-47.
4. Key NS, Christie B, Henderson N, Nelsestuen GL. Possible synergy between recombinant factor VIIa and prothrombin complex concentrate in hemophilia therapy. Thromb Haemost. 2002;88:60-65.

229. PROFILAXIA SECUNDÁRIA: RESPOSTA CLÍNICA AO AGENTE DE BYPASS – RELATO DE CASO

Dantas VECB, Vanderlei AM, Correia MCB, Araújo MAAL, Almeida CBV

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

Introdução: A hemofilia A é uma coagulopatia hereditária causada pela deficiência do fator VIII e sua prevalência é de aproximadamente 1:10.000 homens. Caracteriza-se, clinicamente, pelo aparecimento de sangramentos, principalmente musculares e articulares, e sua gravidade depende dos níveis plasmáticos do fator VIII. Cerca de 5% a 30% dos pacientes com hemofilia A podem desenvolver inibidores, que são aloanticorpos da classe IgG contra o fator VIII infundido, e caracteriza-se pelo aumento da frequência e da gravidade dos episódios hemorrágicos; o controle do sangramento pode ser feito com a administração de concentrado do fator em altas doses ou com produtos de *bypass*, como o concentrado de complexo protrombínico ativado (CCPa) e o fator VII ativado recombinante. Profilaxia é o tratamento feito por meio do uso regular do concentrado do

fator deficiente que visa a prevenir episódios hemorrágicos e evitar possíveis lesões e deformidades decorrentes de sangramentos repetitivos, especialmente nas articulações. É considerada secundária quando iniciada após duas ou mais hemartroses em grandes articulações e antes do início da artropatia hemofílica. **Relato do caso:** J.H.V.S., masculino, 17 anos, admitido em nosso serviço em junho 2001 com diagnóstico de hemofilia A grave. Cursava com sangramentos de repetição. Foi iniciado tratamento domiciliar sob demanda com FVIII; evoluiu com desenvolvimento de inibidor (pico histórico de 166,4 UB/mL em agosto de 2010), apresentou sangramentos de repetição em articulação alvo (joelho esquerdo) e evoluiu com limitação importante da deambulação, com necessidade de meios auxiliares de locomoção. Em agosto de 2012 foi decidido iniciar profilaxia secundária com CCPa e o paciente apresentou melhora considerável, tanto na redução dos episódios hemorrágicos quanto na locomoção, e passou a deambular sem auxílio. Permanece, atualmente, em profilaxia secundária, com boa resposta clínica e sem sequelas. **Conclusão:** O relato deste caso, de um paciente jovem, cuja profilaxia secundária com agente de *bypass* foi iniciada em nosso serviço quando ainda não era consenso na literatura nacional, mas já era usada com sucesso no cenário internacional, corrobora o benefício clínico e o impacto positivo dessa medida na qualidade de vida dos pacientes hemofílicos grave com inibidor. Evita, portanto, sequelas incapacitantes.

230. DOENÇA RENAL CRÔNICA NA INFÂNCIA: DETERMINAÇÃO DE DÍMERO-D E PAI-1

Sousa LPN^a, Silva RMME^a, Silva MVF^a, Pinheiro SVB^b, Soares CMBM^b, Silva ACSE^b, Dusse LMS^a

^a Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: Alterações no mecanismo da coagulação e da fibrinólise têm sido observadas em pacientes com DRC e resultam tanto em sangramento como em complicações trombóticas.¹ A DRC está associada a eventos trombóticos venosos e arteriais, mas o mecanismo fisiopatológico dessa associação ainda não foi elucidado.² Estudos indicam que esses eventos podem estar relacionados à ativação do sistema de coagulação, redução da atividade dos anticoagulantes endógenos, elevação da ativação plaquetária, deficiência na fibrinólise, entre outras causas.^{3,4} Uma revisão da literatura revela que são raros os estudos que avaliaram a homeostasia em crianças com DRC.^{5,6} Como se sabe que muitos pacientes com DRC não chegam ao estágio final da doença renal e morrem prematuramente,⁷ é essencial a condução de estudos que visem à melhor compreensão das alterações da homeostasia, bem como elucidar o papel dos marcadores hemostáticos para o manejo dessas crianças e o prognóstico das doenças. **Objetivos:** Avaliar a coagulação e a fibrinólise em crianças com DRC e comparar com crianças saudáveis. **Material e métodos:** Foram avaliadas 49 crianças com DRC e 30 crianças saudáveis, das quais foram coletados 5 mL de plasma em citrato de sódio (0,106M). As determinações de Dímero-D e PAI-1, para avaliação da coagulação e fibrinólise, respectivamente, foram feitas por Elisa com conjuntos diagnósticos Seikisui®. A análise estatística foi feita com o Prisma, pelo teste de Mann-Whitney, e as diferenças foram consideradas quando $p < 0,05$. **Resultados:** Os níveis plasmáticos de D-Di foram significativamente maiores nos pacientes portadores de DRC em comparação com o grupo controle (274,5 vs 191 ng/mL; $p = 0,0133$; teste de Mann-Whitney). Não houve diferença significativa quanto aos níveis de PAI-1 (11,76 vs 12,44 ng/mL; $p = 0,2013$; teste de Mann-Whitney). **Conclusão:** Os níveis elevados de Dímero D encontrados nas crianças com DRC em relação às saudáveis provavelmente são decorrentes da exacerbação da coagulação, uma vez que níveis inalterados de PAI-1 descartam o aumento da fibrinólise. Dessa forma, pode-se inferir que o Dímero-D plasmático constitui um marcador de grande potencial para o manejo das crianças com DRC e a recomendação de medidas terapêuticas adequadas.

Referências:

1. Pavord S, Myers B. Bleeding and thrombotic complications of kidney disease. *Blood Rev.* 2011;25(6):271-8.
2. Dubin R, Cushman RD, Folsom AR, Fried LF, Palmas W, Peralta CA, et al. Kidney function and multiple hemostatic markers: cross sectional associations in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *BMC Nephrology.* 2011;12(3):12-3.
3. Watanakit K, Cushman M. Current opinion in pulmonary medicine. *Curr Opin Pulm Med.* 2009;15(5):408-12.

4. Adams MJ, Irish AB, Watts GF, Oostryck R, Dogra GK. Hypercoagulability in chronic kidney disease is associated with coagulation activation but not endothelial function. *Thrombosis Research.* 2008;123(2):374-380.
5. Lilova MI, Velkovski IG, Topalov IB. Thromboembolic complications in children with nephrotic syndrome in Bulgaria (1974-1996). *Pediatric Nephrology.* 2000;15(1-2):74-8.
6. Kerlin BA, Blatt NB, Fuh B, Zhao S, Lehman A, Blanchong C, et al. Epidemiology and risk factors for thromboembolic complications of childhood nephrotic syndrome: a Midwest Pediatric Nephrology Consortium (MWPNC) study. *The Journal of Pediatrics.* 2009;155(1):105-10.
7. Eddy AA. Serine proteases, inhibitors and receptors in renal fibrosis. *Thrombosis and haemostasis.* 2009;101(4):656-64.

231. PREVALÊNCIA DAS COAGULOPATIAS HEREDITÁRIAS E TRANSTORNOS HEMORRÁGICOS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

Silveira ALS, Luz AC, Diaz GF, Ourique LO, Calliari DS, Ferreira CB, Paula MLS

Hemocentro do Estado do Rio Grande do Sul (HEMORGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: As coagulopatias hereditárias são doenças hemorrágicas resultantes da deficiência quantitativa e/ou qualitativa de uma ou mais das proteínas plasmáticas da coagulação. As mais frequentes são a doença de von Willebrand (DvW), que tem uma prevalência de 1% na população geral e afeta ambos os sexos, e as hemofílias A (deficiência fator VIII) e B (deficiência fator IX), com uma prevalência estimada de 1: 10.000 e 1: 35.000 meninos nascidos vivos respectivamente. Além dessas existem outras coagulopatias raras que são as deficiências de fator I (fibrinogênio), II (protrombina), V, VII, X, XI, XII e XIII, deficiência combinada de fator V e VIII e deficiência de fatores vitamina K dependentes (II, VII, IX e X). Entre as coagulopatias raras, a deficiência de fator VII é a mais prevalente, de 1:300.000-1:500.000 para deficiência grave (FVII < 2 IU/dL), seguida da deficiência de fator XI estimada em 1:1.000.000 nas deficiências graves (FXI < 10 IU/dL). Existem ainda outros distúrbios hemorrágicos hereditários associados a alterações plaquetárias. No Brasil, as coagulopatias raras, e principalmente a DvW, parecem ser subdiagnosticadas, pois o número de casos reportados é inferior ao de hemofílicos. **Objetivos:** Avaliar a prevalência e o aumento no número de casos diagnosticados das principais coagulopatias no Rio Grande do Sul. **Método:** Estudo descritivo retrospectivo, feito no HEMORGS, por meio da pesquisa no banco de dados do sistema Hemovida Web Coagulopatias. Os dados disponíveis em 2012 foram comparados com os dados obtidos até junho de 2014 e foi avaliado o número de novos diagnósticos. **Resultado:** Em 2012, no Rio Grande do Sul, havia 538 pacientes com hemofilia A; 84 com hemofilia B e 760 com DvW, 5,9%, 4,6% e 13,9%, respectivamente, do total dessas patologias no Brasil. No referido período, foram cadastrados 23 casos de hemofilia A; quatro de hemofilia B; e 134 de DvW, um aumento de 4,2%, 4,7% e 17,6%, respectivamente, no diagnóstico. De 903 pacientes com diagnóstico de coagulopatias raras no Brasil em 2012, no Rio Grande do Sul havia 79 casos (8,7%). No fim de junho de 2014 foram cadastrados 53 pacientes, um aumento de 67% no diagnóstico. Desses, 15 com deficiência de fator VII (28,3%); nove com deficiência de fator V (16,98%); sete portadores de hemofilia A (13,22%); e as demais com proporções menores. **Conclusão:** O diagnóstico das coagulopatias vem aumentando de forma importante no estado, principalmente dos casos de DvW e das coagulopatias raras, entre elas a deficiência de VII. Esse fato provavelmente se deve à melhoria nas técnicas laboratoriais, assim como a uma melhor difusão do conhecimento dessas condições entre os médicos, o que aumenta a suspeita clínica e o encaminhamento. Com a implantação do sistema online Hemovida foi possível conhecer e tornar mais fidedignos os dados dos portadores de coagulopatias hereditárias em todo o território nacional.

232. PERFIL DAS COAGULOPATIAS HEREDITÁRIAS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

Luz AC, Silveira ALS, Diaz GF, Ourique LO, Calliari DS, Paula MLS, Ferreira CB

Hemocentro do Estado do Rio Grande do Sul (HEMORGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: As coagulopatias hereditárias são doenças hemorrágicas decorrentes da deficiência quantitativa e/ou qualitativa de uma ou mais

proteínas plasmáticas (fatores) da coagulação. Entre elas, as mais frequentes são a doença de von Willebrand (deficiência do fator de vW) e as hemofilias A e B, deficiência de fator VIII e IX respectivamente. Já as outras coagulopatias, como as deficiências de fibrinogênio, FII, FV, FVII, FX, FXI, FXII e FXIII, são bem menos frequentes. As coagulopatias hereditárias encontram-se presentes em todos os grupos étnicos e regiões geográficas. O Brasil, segundo dados da FBH (Federação Brasileira de Hemofilia), tem a terceira população do mundo com distúrbios hereditários da coagulação, com 9.122 casos de hemofilia A, 1.801 de hemofilia B, 5.445 de doença de von Willebrand e 1.851 de outras coagulopatias. No total, 18.219 pacientes. No Estado do Rio Grande do Sul, até junho de 2014, temos 1.675 portadores de coagulopatias hereditárias cadastrados no Sistema Hemovida Web Coagulopatias, do Ministério da Saúde. **Objetivo:** Mapear a distribuição dos portadores de coagulopatias hereditárias do Estado do Rio Grande do Sul, nas diversas coordenadorias regionais de saúde, com o sistema online Hemovida Web Coagulopatias do Ministério da Saúde, e identificar a necessidade de descentralizar o atendimento. **Material e métodos:** Estudo descritivo retrospectivo, feito no Hemocentro Coordenador do Estado Rio Grande do Sul, por meio de pesquisa no banco de dados do sistema Hemovida Web Coagulopatias. **Resultados:** Dos 1.675 portadores de coagulopatias hereditárias do estado, temos 561 casos de hemofilia A (33,49%); 88 de hemofilia B (5,25%); 894 de doença de von Willebrand (53,37%); e 132 de outras coagulopatias (7,88%). O Estado do Rio Grande do Sul está dividido em sete macrorregiões, compostas por 19 coordenadorias regionais de saúde. Identificamos o número de pacientes em cada macrorregião: 927 na região metropolitana (55,34%); 245 na serra (14,62%); 156 na região Sul (9,31%); 113 na região dos vales (6,74%); 80 na região Centro-oeste (4,77%); 77 na região Norte (4,60%); e 77 na região missioneira (4,60%). **Conclusão:** Verifica-se que metade da população portadora de coagulopatia hereditária está centrada na região metropolitana. A outra metade encontra-se distribuída pelas outras macrorregiões, o que evidencia a importância do hemocentro coordenador, assim como a necessidade de descentralizar o atendimento dos demais pacientes, que atualmente é feito no Hemocentro Coordenador em Porto Alegre e nos Hemocentros Regionais de Caxias do Sul, Passo Fundo e Pelotas. São evidentes as vantagens de se ter um banco de dados atualizado, pois, por meio do sistema online Hemovida Web Coagulopatias foi possível fazer o mapeamento, por coordenadoria regional de saúde, da população portadora de coagulopatias hereditárias do Estado do Rio Grande do Sul e identificar as necessidades de cada macrorregião e de cada hemocentro, para proporcionar uma melhor qualidade de atendimento e distribuição de medicamentos para os pacientes.

233. HEMOFILIA A ADQUIRIDA: UTILIZAÇÃO DE PLASMAFÉRESE NA REMISSÃO – RELATO DE CASO E REVISÃO DA LITERATURA

Freire CB^a, Luz AC^a, Diaz GF^a, Ourique LO^a, Silveira ALS^a, Calliari DS^a, Bandinelli E^b, Paula MLS^a, Pereira W^c

^a Hemocentro do Estado do Rio Grande do Sul (HEMORGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^c Hospital Universitário de Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

Introdução: Hemofilia adquirida é um distúrbio raro da coagulação (2:1.000.000) associado à produção de autoanticorpos que inativam o fator VIII (inibidor fator VIII). Desenvolve-se na idade adulta e pode estar associada a condições como neoplasias, doenças autoimunes, algumas drogas e gestação em aproximadamente 40% dos casos. Clinicamente se manifesta por púrpura cutânea extensa, hematomas extensos e mais raramente por hemartroses (sangramentos intra-articulares) de repetição, que se iniciam na vida adulta. Ambos os sexos podem ser afetados, assim como todas as etnias. Laboratorialmente apresenta tempo de tromboplastina (TTPA) elevado e níveis de fator VIII baixo. Estudos de mistura devem ser usados para diferenciar a presença de inibidor do fator VIII da presença de anticorpos antifosfolípide e não ocorre correção do TTPA no primeiro caso. O tratamento dos sangramentos agudos é feito com agentes de *bypass*, mas só deve ser usado em casos de sangramentos que apresentem risco ao paciente, pois a resposta é variável. O tratamento para erradicar o inibidor deve ser feito com uso de corticoide oral e imunossuppressores como a ciclofosfamida e azatioprina. **Objetivo:** Relatar

um caso de hemofilia adquirida e revisar a literatura quanto às opções terapêuticas. **Relato de caso:** Paciente M.S., feminina, 38 anos, encaminhada para avaliação por TTPA alterado, associado a hematomas de repetição e suspeita de hemartrose em tornozelo. Sem história prévia de sangramentos e sem história familiar. Paciente puérpera, segunda gestação. Coletado exames para avaliação de fator VIII e FVW, com diagnóstico de inibidor adquirido 128 UB em 14/06/2014. Foi iniciada prednisona 1 mg/kg/dia em 30/07/2013, pois paciente esteve internada em sua cidade de origem por quadro de hematoma extenso e doloroso em dorso. Em 10/09, após um mês e 10 dias de tratamento com corticoide, apresentou dosagem de inibidor de 3.000 UB. A paciente foi então orientada a iniciar azatioprina 100 mg/dia e, por falta de condições financeiras e de acompanhamento regular, foi encaminhada para um hospital universitário de sua região. Apresentou resposta inicial a azatioprina, com redução do inibidor para 1.536 UB em 17/10 e 832 UB em 12/11. No entanto, em 11/12, o inibidor subiu para 960 e em 15/01/2014 para 1.024. Considerando a possibilidade de fazer plasmaférese no local e a falta de resposta adequada à imunossupressão, associada ainda às complicações frequentes da paciente, optou-se por iniciar plasmaférese, em 25/02. A paciente apresentou excelente resposta ao tratamento, com redução do inibidor progressivamente para 576 UB em 17/3; 352 UB em 16/4; e 42 em 8/5. Foi iniciada então ciclofosfamida para manter a resposta, com última dosagem de inibidor de 1,5UB. **Conclusão:** A hemofilia adquirida é uma condição rara e grave, com prognóstico reservado. Aproximadamente 36% dos pacientes apresentam remissão espontânea. O tratamento desses pacientes se baseia no uso de corticoide e imunossuppressores. No entanto, existe muita controvérsia em relação ao agente imunossupressor, assim como quanto ao tempo de tratamento. Relatamos o caso de uma paciente que não obteve resposta ao tratamento com corticoide, teve resposta parcial com uso de imunossupressor (azatioprina) e uma excelente resposta a plasmaférese, apesar de esse procedimento não fazer parte do algoritmo terapêutico desses casos.

234. IMPLANTAÇÃO DE UM PROGRAMA DE AVALIAÇÃO EXTERNA DE QUALIDADE EM HEMOSTASIA PARA SERVIÇOS DE HEMATOLOGIA: PAEQ-HEMOSTASIA

Montalvão SAL^a, Aguiari HJ^a, Sternick GP^b, Genovez C^b, Rezende SM^b, Ozelo MC^a, Bizzacchi JA^a, Paula EV^a

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

^b Coordenação da Política Nacional de Sangue e Hemoderivados, Ministério da Saúde, Brasília, DF, Brasil

Introdução: Programas de avaliação externa de qualidade (PAEQ) são ferramentas para avaliação formal da exatidão de ensaios feitos nos laboratórios participantes. A participação nesses programas é obrigatória de acordo com a legislação brasileira e possibilita a identificação de oportunidades de melhoria para os participantes. No Brasil, o diagnóstico laboratorial dos distúrbios da hemostasia ainda é deficiente e setorizada. Deve-se destacar que resultados incorretos em hemostasia resultam não apenas em riscos para os pacientes, mas também em desperdício de montantes significativos de recursos com fatores da coagulação. Não há no Brasil um PAEQ focado exclusivamente em hemostasia e que contemple testes mais complexos usados no diagnóstico de coagulopatias hereditárias. O PAEQ-Hemostasia tem como objetivo contribuir para a melhoria da qualidade dos laboratórios que atendem indivíduos com distúrbios da hemostasia na rede pública do Brasil. **Material e métodos:** Desde 2008 foi estabelecida uma parceria entre a UNICAMP e a Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde para a implantação de um PAEQ-Hemostasia. A primeira etapa foi a aquisição do programa da Federação Mundial de Hemofilia (WFH) para 26 hemocentros durante 2008-2014, que possibilitou a avaliação da condição laboratorial do país no período. A segunda etapa foi a transferência de tecnologia para a produção das amostras, que se iniciou em 2011 por meio de cooperação com uma Instituição Britânica (UK-NEQAS). A terceira etapa, em curso, consiste na validação das amostras produzidas com distribuição nacional. Para isso, os laboratórios participantes foram desafiados a testar as amostras de ambos os programas, sem conhecimento prévio da origem, se nacional ou internacional. **Resultados:** Duas distribuições foram feitas até o momento, identificadas como A e B. Os perfis dos pacientes selecionados para a produção das amostras nacionais foram, quando possível, similares aos internacionais, a fim de permitir uma avaliação comparati-

va. Na distribuição A, amostras de pacientes com deficiência congênita de FVII e DVW tipos 1 e 2 e de um indivíduo saudável foram usadas para TP e TTPa, FVIII e IX e FVW. Na distribuição B, amostras de pacientes sob anticoagulação oral, DVW e hemofilia B foram usadas. No processo de validação observamos um aumento da participação dos hemocentros no programa, de um histórico de 70% para 100%. O coeficiente de variação dessa distribuição foi 11,6% e 9,9% para TP, 10,9% e 10% para TTPa, 27,2 e 31,5% para FVIII:C, 27,5% e 50,7% para FIX:C e 18% e 19,9% para FVW:Ag, para o PAEQ-Hemostasia e UK-NEQAS, respectivamente. Para as determinações de FVIII:C e FIX:C uma boa correlação entre os dados foi observada ($R^2 = 0,48$, $p < 0,05$; $R^2 = 0,49$, $p < 0,001$, respectivamente). Nessas análises, os três laboratórios que apresentaram resultados inadequados no programa internacional também apresentaram resultados inadequados para PAEQ-Hemostasia. **Conclusão:** Esses resultados preliminares sugerem que o processo de produção das amostras do PAEQ-hemostasia no Brasil apresenta qualidade adequada. Novos estudos de validação estão em andamento para permitir a implementação definitiva dessa ferramenta, que é complementar a outras ações de melhoria do diagnóstico recentemente implementadas no Brasil.

235. COMPARATIVE EVALUATION IN A CLINICAL SETTING OF TWO ASSAYS IMMOBILIZED GPIB WITH OR WITHOUT RISTOCETIN AGAINST FOUR CLASSICAL ASSAYS FOR VWF FUNCTIONAL DETERMINATION

Montalvão SAL, Soares SMS, Machado T, Colella MP, Annichino-Bizzacchi JM, Medina SS, Ozelo MC

Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

The diagnosis of von Willebrand disease (VWD) remains a challenge in daily hematology practice. Ristocetin cofactor activity (VWF:RCo) is an important parameter for the diagnosis of VWD; however, the assay presents a high coefficient of variation. Classical methods to measure VWF:RCo include light-transmission platelet aggregometry (LPA), visual agglutination (VA), and more recently, VWF activity based on latex (latex immunoassay; LIA). The glycoprotein (GP) Ib α is the main receptor for von Willebrand factor (VWF) in the platelet membrane. Currently, two methods with immobilized GPIb α have been developed to improve the sensitivity and specificity of VWF:RCo. One is performed with ristocetin, while the other one uses a mutant GPIb α with increased function and does not require ristocetin. This study aims to compare two assays using immobilized GPIb α with four other assays for VWF functional determination, in patients with confirmed and under investigation for VWD. Six different VWF functional assays were evaluated: LPA; VA *in-house*; and LIA; compared with two assays using immobilized GPIb α . Plasma samples collected at the same time from 40 individuals were used in this comparative study, with 25 type-1 VWD, two type-3 VWD, and 13 under investigation. Diagnosis of VWD was based on bleeding history (MCMDM-1VWD Bleeding Score), historical levels of VWF:Ag by ELISA, and VWF:RCo (LTA/VA) obtained from medical records. Statistical analyses were performed using Prism 6.0. When all 40 patients were evaluated for both methods, GPIb α -ristocetin and GPIb α -mutant, a good correlation was observed ($r = 0.8954$; $p < 0.0001$). However, when seven type-1 VWD patients, and one patient under investigation were evaluated by the six methods, the two using immobilized GPIb α showed lower medians (16.78 \pm 4.62 with GPIb α -ristocetin, and 16.28 \pm 4.29 with GPIb α -mutant), when compared with the other four assays (LPA: 22.38 \pm 5.5; VA *in-house*: 21.45 \pm 4.87; VA commercial: 22.65 \pm 4.9; and LIA: 24.19 \pm 9.0). In this group, when the bleeding scores (BS) were ≥ 5 , the VWF functional results were lower than 25 IU/dL, using all six methods. Among 13 individuals under VWD investigation, GPIb α -ristocetin and GPIb α -mutant showed good agreement with the LPA/VA results and clinical history, and it could be concluded that four had VWD, and for four individuals VWD was excluded. However, two individuals with no history of bleeding presented abnormal results for GPIb α -ristocetin and GPIb α -mutant, probably showing false positive results. The VWF:RCo is a cumbersome assay and can be affected by polymorphisms present in the ristocetin binding site of VWF. Recently, new technologies have been developed to improve the VWF functional evaluation. It is a consensus that methodologies using platelets are more accurate than other methods. Therefore, immobilized GPIb α aims to improve sensitivity and specificity. Besides good results of concordance between immobilized GPIb α in the group of VWD patients and for 62% of

the individuals under investigation, false positive results were also observed related to these methods. The presence or absence of ristocetin in the setting of immobilized GPIb α does not appear to engender different results in this study. In general, these new technologies present better precision compared to VA and LPA.

236. SÍNDROME COMPARTIMENTAL APÓS PUNÇÃO VENOSA COMO PRIMEIRA MANIFESTAÇÃO HEMORRÁGICA EM PACIENTES COM HEMOFILIAS A E B GRAVE, SEM DIAGNÓSTICO PRÉVIO

Prezotti A, Orletti MPSV, Duarte JSM, Silveira MB, Marcondes SS, Montezi L, Silva CR, Bravim FP, Prucoli BM, Souza SRV

Centro de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES), Vitória, ES, Brasil

Objetivo: Relatar dois casos de síndrome compartimental (SC) como primeira manifestação hemorrágica em pacientes com hemofilias A e B grave, sem diagnóstico prévio. Esse evento é bastante desafiador, pois existe risco de sequelas decorrentes da própria SC, principalmente quando se retarda o tratamento e nos casos nos quais há uma coagulopatia associada. A fasciotomia isolada pode piorar ainda mais o sangramento. **Caso 1:** ADNL, com um mês, nascido em 12/04/2014, necessitou de reanimação e entubação orotraqueal na sala de parto. Foi levado à Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal para cuidados. Após punção venosa em mão esquerda evoluiu com lesão vascular com SC e isquemia e foi necessária a fasciotomia. Apresentou sangramento profuso, com queda da hemoglobina de 12,8 g/dL para 8,9 g/dL, associada à coagulopatia de consumo, com queda das plaquetas de 320.000 para 37.000/mm³, alargamento do TTPa (240") e TP = 20% de atividade. Recebeu plasma fresco congelado, na dose de 10 mL/kg/dia + vitamina K por três dias. Após quatro dias da suspensão do plasma, voltou a sangrar em local de inserção de punção venosa e recebeu novamente plasma na mesma dose, com resolução do sangramento. Teve alta hospitalar com TTPa alargado (120"), TP e fibrinogênio normais. A fasciotomia cicatrizou por segunda intenção. Foi levado ao HEMOES para investigação diagnóstica e os exames de triagem mostraram TP = 87% de atividade, TTPa alargado (165"R = 5,5), que corrigiu a 50%. A dosagem do Fator VIII foi < 1%, que confirmou o diagnóstico de hemofilia A grave. **Caso 2:** PMS, com 11 meses, foi encaminhado por apresentar hematoma extenso em antebraço direito, após punção venosa, e necessitar de internação. No hospital, a mãe informou que tinha dois primos com provável hemofilia A. Foi feita a reposição de Fator VIII empírico por cinco dias, sem sucesso. Foi feito contato com o HEMOES para confirmar o diagnóstico da hemofilia. Por meio do coagulopatia web, foi constatado que os primos eram portadores de hemofilia B. Foi solicitada amostra do paciente para dosagem do fator e trocada imediatamente a terapia mediante a gravidade do caso. Dosagem de fator IX < 1%, que confirmou hemofilia B grave. Houve resolução do caso sem necessidade de fasciotomia. O paciente apresenta sequela neurológica leve, que está melhorando com fisioterapia. Desde então, encontra-se em profilaxia primária, com boa resposta. **Discussão:** A SC é uma apresentação desafiadora nos pacientes com hemofilia por necessitar de diagnóstico rápido e tratamento preciso. A indicação de fasciotomia urgente no primeiro caso contribuiu para o diagnóstico de coagulopatia, porque o sangramento não cessava, com consumo de plaquetas e queda do nível de hemoglobina. O atraso no diagnóstico da SC é fator determinante para um pior prognóstico, como foi no segundo caso, que acabou evoluindo com sequela neurológica. **Conclusão:** Episódios de sangramentos persistentes pós-fasciotomia são indicativos de defeito de coagulação. Uma história familiar para coagulopatia deve ser investigada e confirmada em pacientes com esses quadros, para não retardar o início da terapia de reposição de fator, crucial para o bom desfecho do quadro.

237. VISITA DOMICILIAR A PACIENTES COM COAGULOPATIAS HEMORRÁGICAS HEREDITÁRIAS DO DF: ESTRATÉGIA PARA PROMOÇÃO DA SAÚDE E ADESÃO AO TRATAMENTO

Prado CRS, Jaime AFCC

Fundação Hemocentro de Brasília (FHB), Brasília, DF, Brasil

As visitas domiciliares aos pacientes com diagnósticos de coagulopatia hemorrágica hereditária do Distrito Federal tiveram início em 2011,

antes de a Fundação Hemocentro se tornar o centro de referência no tratamento ambulatorial do DF. Desde então, foram feitas mais de 200 visitas domiciliares multiprofissionais. As visitas domiciliares pela Fundação Hemocentro de Brasília (FHB) surgiram com o objetivo de iniciar a construção do vínculo entre a instituição e o paciente, conhecer o perfil sociofamiliar e as condições de armazenamento dos fatores de coagulação. As visitas eram feitas por assistente social e farmacêutica. A partir das visitas domiciliares, a FHB iniciou uma proposta inovadora para facilitar o acesso e o tratamento de pacientes graves e em profilaxia. Considerando que esses pacientes fazem a infusão dos fatores de coagulação com maior frequência semanal e que a ausência do tratamento profilático adequado pode gerar sequelas físicas ou até mesmo o óbito, a FHB passou a fazer a dispensação domiciliar, que abarcou 80% desses pacientes. Contudo, a partir de meados de 2013, a equipe observou que não bastava os pacientes receberem a medicação em domicílio para garantir o tratamento. E também que, em se tratando de pacientes não graves e com tratamento sob demanda, havia dificuldade na adesão ao tratamento. Assim, a equipe multiprofissional traçou objetivos estratégico-metodológicos para subsidiar as visitas domiciliares: a promoção de saúde e a adesão ao tratamento. A partir de junho de 2014 as visitas passaram a ser traçadas de acordo com a demanda de cada caso, discutidos anteriormente entre a equipe multiprofissional: assistente social, enfermeira, psicóloga, farmacêutica, fisioterapeuta e médico assistente – hematologista e/ou ortopedista. Para as visitas são observadas as questões fisiológicas, clínicas, psíquicas e socioeconômicas que impedem o tratamento e são delimitados quais os pacientes e os respectivos profissionais que comporão a equipe de visita. Portanto, a visita domiciliar constitui a metodologia adotada pela FHB como forma de ultrapassar as paredes institucionais no acesso ao paciente e sua rede sociofamiliar, pois o ambiente da própria residência favorece ao rebaixamento das defesas emocionais com a equipe de saúde, potencializa o vínculo com os profissionais visitantes e a adesão ao tratamento e, portanto, favorece o (re)estabelecimento integral da saúde do paciente. A visita domiciliar não é obrigatória, está atrelada ao consentimento do paciente, bem como a agendamento prévio com explicação sobre seu objetivo. Caso o paciente se recuse a receber a visita, faz-se a orientação sobre os resultados da não adesão ao tratamento, o que possibilita ao paciente comparecer ao Ambulatório da FHB para obter as informações necessárias. Contudo, a visita proporciona o acompanhamento mais eficaz e o retrato fidedigno da dinâmica familiar, qualifica o olhar sobre os papéis representados na família e as dificuldades vivenciadas nas relações, além de analisar com maior profundidade as questões sociais que possam impedir a compreensão, a adesão e o acompanhamento do paciente e parentes ao tratamento.

238. ATROFIA BRANCA DE MILIAN E SÍNDROME DO ANTICORPO ANTIFOSFOLÍPIDE – RELATO DE CASO

Souza HI, Santos KSM, Correia MCB, Rilhas GP, Costa MFH, Correia CWB, Brandao R, Koury J

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

Introdução: A vasculopatia livedoide (VL) ou atrofia branca de Milian (ABM) é uma lesões cutânea purpúrica ou necrótica que pode ulcerar e evoluir para uma cicatrização esbranquiçada e atrófica. Sua etiopatogenia mais bem aceita é de uma microangiopatia trombótica em que a ação vaso-oclusiva dos endotélios acometidos é a causa principal das lesões. A presença de marcadores pró-coagulantes e o aumento dos níveis de fibrinopeptídeo A na VL sugerem o seu estado de hipercoagulabilidade, além da atividade fibrinolítica reduzida, dos níveis séricos de proteínas pró-inflamatórias normais e da agregação plaquetária exacerbada. Os achados compatíveis com VL são: trombose hialina da vasculatura dérmica com graus variáveis de extravasamento, deposição de hemossiderina e atrofia da derme sem infiltrado inflamatório ou leucocitoclasia. Entre os casos já relatados na literatura encontramos a associação da VL com trombofilias hereditárias e adquiridas, como a síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAF). **Relato do caso:** Paciente do sexo feminino, 44 anos, procedente de Arcoverde, Estado de Pernambuco, acompanhada no serviço de Hematologia e Dermatologia do Hospital das Clínicas (UFPE), inicialmente apresentava lesões violáceas em abdome e membros inferiores havia 11 meses. O diagnóstico de ABM foi estabelecido por meio da biópsia cutânea do paciente. O tratamento inicial foi feito com dapsona 100 mg ao dia e foi observada uma boa resposta terapêutica, com atrofia das lesões em dois meses. Depois da regressão

dos sintomas, perdeu-se o seguimento do paciente durante seis anos. Em maio de 2011, a paciente retornou ao serviço com queixa de reaparecimento das lesões anteriores, além do surgimento de lesão única ulcerada de bordas eritematosas em tornozelo esquerdo. Em junho de 2011 a paciente referiu quadro de dor intensa, associada a eritema e edema do terço distal do membro inferior direito. A ultrassonografia com Doppler de membros inferiores evidenciou tromboflebite da veia safena magna direita. Iniciou-se o tratamento com cefalexina, sulfadiazina, dapsona 75 mg, AAS e corticoide. Houve controle do quadro clínico, porém, em março de 2012, surgiram novas lesões ulceradas em membro inferior esquerdo e parestesia intermitente em tornozelos e face lateral dos pés. Em abril de 2012, com a piora das lesões, optou-se pelo tratamento com dapsona de 100 mg, além de prednisona de 40 mg e colágeno hidrolisado nas lesões ativas. As sorologias para colagenose, anticoagulante lúpico, anticardiolipina e mutações hereditárias para trombofilia foram negativas. Em maio de 2013, apesar do uso do AAS, constatou-se, por meio da ultrassonografia com Doppler, uma nova tromboflebite em veia safena magna esquerda com fistula vascular superficial e profunda. Exames laboratoriais para SAF demonstraram a presença da antifosfatidilserina IgG aumentada na dosagem de 33,3 GPL. Acrescentou-se ao tratamento inicial cilostazol. Foram mantidos o AAS e as demais medicações já citadas. Houve cicatrização das úlceras de membros inferiores e ausência de novas lesões. **Conclusão:** Os autores recomendam a necessidade da antifosfatidilserina nos casos em que a anticardiolipina e o anticoagulante lúpico sejam negativos, pois o diagnóstico precoce de SAF associado à ABM requer o uso conjunto dos antiagregantes AAS e cilostazol como terapia mais eficaz na prevenção de tromboflebitas.

239. PANORAMA DO TRATAMENTO DE IMUNOTOLERÂNCIA NO BRASIL: INFORMAÇÕES PARA A GESTÃO EM SAÚDE

Leister GA, Rodrigues SL, Rezende SM, Magalhaes VL, Melo HT

Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados (CGSH), Ministério da Saúde, Brasília, DF, Brasil

Introdução: O tratamento de indução de imunotolerância (ITI) é indicado para pacientes com hemofilia congênita que desenvolvem inibidores persistentes contra o fator infundido e impede a reposição de fator e profilaxia. No Brasil, a ITI foi implantada preliminarmente em outubro de 2011 pelo Ministério da Saúde, por meio da Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados (CGSH), e oficializado em junho de 2014 por portaria ministerial. **Objetivo:** Apresentar o panorama da ITI no Brasil desde sua implantação até a presente data. **Material e métodos:** Estudo descritivo que usou como banco de dados o Sistema Hemovida Web Coagulopatias (HWC). Entre 2011 e julho de 2014 foram incluídos, pelo Ministério da Saúde, 159 pacientes com indicação de ITI que representaram 30,87% do total de pacientes potencialmente elegíveis (n = 519). Os estados do Rio de Janeiro, do Paraná e de Minas Gerais incluíram o maior número de pacientes, isto é, 15%, 13,8% e 12,5%, respectivamente, seguidos por São Paulo, Ceará e Pernambuco, com, respectivamente, 10%, 8,8%, 8,1%. Os demais estados apresentaram percentual abaixo de 5%. A região com maior percentual de inclusões foi a Sudeste, com 43,39%, seguida, respectivamente, pelas regiões Nordeste, Sul, Centro-Oeste e Norte com 23,27%, 22,01%, 6,91% e 4,40%. Com relação à idade de início da ITI, observou-se que a mediana foi de nove anos (variação de um-49). **Resultados:** Dos 159 pacientes incluídos, 13 (10,07%) negatavam o inibidor e cinco (3,14%) tiveram interrupções no tratamento por causa da falha de adesão terapêutica, da recusa do paciente e/ou da não resposta ao tratamento. Apesar de limitações da análise relacionada à curta série histórica e considerando que a maioria dos pacientes ainda não atingiu o término do tratamento (de até 33 meses), é possível indicar que dos 13 pacientes que negatavam o inibidor, o tempo médio para o alcance de sucesso total no tratamento foi de 12,84 meses. Com relação à tendência do tratamento de ITI ao longo dos anos, considerou-se a média de inclusão por mês, pois 2011 e 2014 não compreendiam anos de exercício completo (12 meses). Assim, para retratar esse período têm-se as seguintes informações: em 2011, 2012, 2013 e 2014, respectivamente, foram incluídos sete (4,4%), 48 (30,18%), 58 (36,47%) e 46 (28,93%) pacientes. Avaliando a taxa de inclusão por mês, em 2011, 2012, 2013 e 2014 somaram-se, respectivamente, três, cinco, quatro, 4,8 e 6,5 inclusões/mês. Na avaliação da tendência de crescimento, que teve como base a média mensal de inclusões por ano, observou-se um

aumento de 14,20% entre 2011 e 2012, 20,70% entre 2012 e 2013 e 36,02% entre 2013 e julho de 2014. **Conclusão:** A adesão ao programa de ITI foi excelente e correspondeu às metas da CGSH. A maioria dos pacientes incluídos é criança, com mediana de nove anos, e o Sudeste é a região que apresentou maior inclusão de pacientes. Embora a série histórica para análise tenha abrangido apenas três anos, este trabalho possibilitou a visualização do perfil inicial e das tendências da ITI no Brasil. Por último, esta análise é fundamental para o planejamento e a gestão do Programa de Coagulopatias no Brasil.

240. AVALIAÇÃO DO PERFIL IMUNOLÓGICO DE PACIENTES COM HEMOFILIA RECÉM-DIAGNOSTICADA

Jardim LL^a, Chaves DG^b, Portugal MS^b, Kuettel LA^a, Prezotti A^c, Lorenzato CS^d, Rezende SM^a

^a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Fundação Hemominas, Belo Horizonte, MG, Brasil

^c Centro de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES), Vitória, ES, Brasil

^d Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (HEMEPAR), Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A hemofilia congênita é uma doença hemorrágica resultante da deficiência dos fatores VIII (FVIII) na hemofilia A ou IX (FIX) na hemofilia B. Indivíduos com hemofilia necessitam de infusões constantes de concentrados de FVIII ou IX para profilaxia e/ou tratamento das hemorragias. Durante o tratamento, cerca de 30% e 5% dos pacientes com hemofilia A e B, respectivamente, desenvolvem aloanticorpos (inibidores) que inibem a atividade coagulante do fator infundido e promovem a ineficácia da reposição de fator. **Objetivo:** Avaliar o perfil de ativação celular em pacientes com hemofilia recém-diagnosticada, antes do início do tratamento com concentrado de fator deficiente. **Material e métodos:** Foram incluídos 23 pacientes provenientes do Hemominas, HEMOES, HEMEPAR E HEMORIO, dos quais 19 (82,61%) com hemofilia A grave, um (4,35%) com hemofilia A moderada, dois (8,70%) com hemofilia B moderada e um (4,35%) com hemofilia B leve. Em 17 pacientes (73,91%) foram feitas análises quantitativas do perfil celular em leucócitos do sangue periférico, incluindo marcadores de ativação de linfócitos T (CD4+ e CD8+), linfócitos B, células NK, monócitos e neutrófilos. **Resultados:** Para os 15 marcadores avaliados, quatro pacientes (23,5%), cinco (29,4%), um (5,9%), cinco (29,4%), um (5,9%) e um (5,9%) tiveram, respectivamente, nenhum, um, dois, três, cinco e seis marcadores, que apresentaram ativação celular acima da média encontrada na totalidade dos pacientes. **Conclusão:** Os resultados sugerem que alguns pacientes com hemofilia congênita A e B têm alteração no perfil imunológico no seu estado basal, isto é, antes do início das infusões de concentrado de fator. Entretanto, será necessário complementar este estudo por meio de análise de grupos controle sem hemofilia e com hemofilia e inibidor, que se encontra em andamento. **Palavras-chave:** Hemofilia, inibidor, citocinas, quimioquinas. **Financiamento:** Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

241. PRODUÇÃO DE FATOR IX RECOMBINANTE NAS CÉLULAS HUMANAS 293T E SK-HEP-1 E AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS À GAMA-CARBOXILAÇÃO

Bomfim AS^{a,b}, Freitas MCC^{b,c}, Picanco-Castro V^b, Neto MAS^b, Swiech K^a, Covas DT^{b,c}, Russo EMS^a

^a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: O fator IX (FIX) da coagulação sanguínea é uma proteína dependente de vitamina K de grande valor farmacêutico no tratamento da hemofilia B. A produção desse fator recombinante tem como principal problema a gama-carboxilação incompleta feita pelas células murinas, nas quais é produzido atualmente. **Objetivo:** Avaliar duas linhagens celulares humanas (293T e SK-Hep-1), modificadas geneticamente

com um vetor lentiviral que continha o cDNA do FIX, para serem caracterizadas quanto à expressão gênica das principais proteínas do ciclo da vitamina K. São eles gama-carboxilase, 2,3 epóxi-redutase (VKOR) e inibidor calumenina (Calu). **Material e métodos:** As células foram cultivadas em garrafas estáticas no meio DMEM 10% SFB. Fez-se então, a extração do RNA total de cada uma das linhagens, seguida de síntese do cDNA e análise da expressão gênica por PCR em tempo real para os seguintes genes: gama-carboxilase, VKOR e Calu. Dois genes endógenos foram empregados para a normalização dos resultados (GAPDH e beta-actina). **Resultados:** Os dados mostraram que as células 293T-FIX apresentaram a maior expressão das enzimas gama-carboxilase, VKOR e Calu (721 URE – Unidades Relativas de Expressão; 11.092 URE e 1.302 URE, respectivamente), enquanto as células SK-Hep-1-FIX apresentaram expressão bem inferior dessas enzimas (120 URE; 1.113 URE e 483 URE, respectivamente). O número de cópias lentivirais inseridas no genoma celular das células transduzidas foi avaliado por meio de qPCR pela metodologia de SYBR® Green, no qual foram observados 7,67 cópias integradas no genoma das células 293T-FIX e 17 cópias no genoma das células SK-Hep-1-FIX. A expressão de FIX no sobrenadante celular foi avaliada por Elisa e cromogênico. As células SK-Hep-1-FIX apresentaram 803 ng de antígeno por 10⁶ células, enquanto as células 293T-FIX apresentaram 500 ng de antígeno por 10⁶ células. Com relação à atividade biológica específica, a linhagem SK-Hep-1 transduzida produziu 186 mUI/10⁶ células e a linhagem 293T transduzida produziu 47 mUI/10⁶ células. A relação entre os dados obtidos por Elisa e cromogênico demonstra que a linhagem celular 293T-FIX expressa 3,5 proteínas recombinantes inativas para cada proteína biologicamente ativa, enquanto as células SK-Hep-1-FIX expressam, praticamente, todas as suas proteínas funcionais. A caracterização da proteína foi feita por western blot, no qual foi observada uma banda imunoreativa do tamanho esperado que confirmou a secreção desse fator de coagulação recombinante pelas células 293T e SK-Hep-1 transduzidas. **Conclusão:** Nossos dados sugerem que a célula SK-Hep-1 é a mais indicada para a produção de FIX recombinante.

242. HEMOFILIA B E SÍNDROME COMPARTIMENTAL DE MEMBRO INFERIOR – RELATO DE CASO

Figueiredo SSLV^a, Santos GLD^b, Santos BLR^c, Peixoto LMFP^c, Campos MSM^c, Sousa RQM^c, Sampaio TS^c, Weyne YP^c

^a Hemocentro da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil

^b Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campina Grande, PB, Brasil

^c Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: A hemofilia é um distúrbio genético recessivo ligado ao cromossomo X caracterizado pela deficiência dos fatores VIII (hemofilia A) ou IX (hemofilia B) da coagulação sanguínea. A hemofilia B é bem mais rara, encontrada em 1:50.000 a 1:100.000 indivíduos. Apresenta-se clinicamente com diáteses hemorrágicas da hemostasia secundária, ou seja, hemorragias graves em cavidades, hematomas intramusculares (com até a formação de pseudotumores) e hemartroses, aos mínimos esforços ou mesmo espontâneas, a depender da quantidade funcionante dos fatores de coagulação VIII ou IX. Assim, a hemofilia se classifica em grave (< 1%), moderada (> 1% e < 5%) e leve (> 5% e < 40%). Entre as possíveis complicações desses eventos hemorrágicos está a síndrome compartimental, caracterizada por um aumento da pressão intersticial sobre a pressão de perfusão capilar dentro de um compartimento osteofacial fechado, que leva à compressão de vasos sanguíneos e nervos e promove necrose local rapidamente, quando não tratada. Enquadra-se em emergência cirúrgica e pode levar a isquemia de Volkmann, contrações, déficits neurológicos, amputação de membros e síndrome Crush se não tratada precocemente e de maneira eficaz. **Objetivo:** Descrever o caso clínico de um portador de hemofilia B com quadro de síndrome compartimental na região medial da perna após breve esforço físico. **Material e métodos:** Pesquisa de natureza qualitativa do tipo estudo de caso. **Relato de caso:** J.C.S., masculino, 48 anos, 70 kg, pardo, casado, ensino médio completo, procedente de João Pessoa (PB), diagnosticado com hemofilia B em 2004 (dosagem fator IX:C de 2,29%). Admitido em 28/04/2014 no Hemocentro da Paraíba com quadro de dor, edema e parestesia em MID após levantamento de peso havia dois dias. Ao exame, perna direita cianótica, fria e com pulsos distais filiformes. Feita administração de 8.000 UI de fator IX imediatamente e encaminhamento

urgente à hospital de trauma para avaliação vascular. No hospital fez doppler colorido venoso de MMII, no qual foi identificado volumoso hematoma na topografia de m. gastrocnêmio medial, sem trombose venosa, superficial e profunda. Diante do quadro e da evolução para ausência de pulsos periféricos, decidiu-se pela fasciotomia medial e anterolateral da perna direita ainda em 28/04/2014. Em seu quinto DPO fez hemograma: Hb-11,6 g/dL, Ht-33,3%, VCM-97 u3, leucócitos-8.900/mm³ (01/58/03/00/30/00/08), TTPA-26,7s, TP-16,2s, INR-1,22. Foram prescritos dipirona, cefalotina, ácido tranexâmico 8/8h e fator IX 8 000 UI (esse foi modificado para 5 000 UI no oitavo DPO). Paciente evoluiu com anemia e infecção local e necessitou ainda de oito unidades de concentrado de hemáceas durante os 41 dias de internação. As fasciotomias foram fechadas em 04/06/2014. **Conclusão:** A gestão da hemostasia em pacientes com hemofilia B submetidos a procedimentos invasivos é essencial para a segurança e o bem-estar desses. O uso já bem estabelecido do fator de reposição IX intravenoso é a opção disponível e deve ser empregado ainda no pré-operatório, de forma manter a atividade do fator acima de 50% e prevenir as complicações hemorrágicas.

243. ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO C807T NO GENE DA GLICOPROTEÍNA I A (GPIA) DA MEMBRANA PLAQUETÁRIA COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA EM MULHERES DE SALVADOR - BAHIA

Carvalho SP^a, Cardeal ALS^a, Oliveira RM^a, Mendes KO^a, Veloso NS^a, Barreto JC^a, Ferreira JRD^a, Junior RA^b, Gonçalves MS^c, Adorno EV^a

^a Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

^b Hospital Ana Nery, Salvador, BA, Brasil

^c Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

Introdução: A doença arterial coronariana (DAC) é uma alteração inflamatória crônica no endotélio vascular, consequência de interações entre fatores de risco clássicos, como diabetes mellitus, hipertensão arterial, obesidade, dislipidemias e história familiar. Além disso, alterações envolvendo adesão, ativação e agregação plaquetária têm sido correlacionados com a predisposição à DAC. Polimorfismos de genes de glicoproteínas de membrana plaquetária (GPs) têm sido correlacionados a eventos coronários, por causa do aumento da ativação e da adesão plaquetária. **Objetivo:** Avaliar a frequência do polimorfismo C807T no gene GPIA em mulheres de Salvador (BA) e correlacioná-la com outros fatores de risco. **Material e métodos:** Estudo de corte transversal que envolveu 54 mulheres submetidas à angiografia coronariana (AC) no Hospital Ana Nery. A DAC foi definida quando a estenose foi superior a 25% e caracterizou lesão obstrutiva das artérias coronarianas. As participantes do estudo responderam a um questionário epidemiológico e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. As informações clínicas foram obtidas pela consulta ao prontuário. As determinações bioquímicas e hematológicas laboratoriais foram feitas no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFBA, além de verificadas as medidas antropométricas e de pressão arterial. A análise molecular para detecção de polimorfismo foi feita por meio da reação da polimerase em cadeia (PCR). A análise estatística foi desenvolvida no programa Epiinfo v. 6.4. A mediana de idade das 54 mulheres pesquisadas foi de 60 anos (39-78). **Resultados:** Das mulheres submetidas à AC, 33 (61,1%) apresentaram algum tipo de oclusão ou estreitamento das artérias; as análises laboratoriais demonstraram níveis glicêmicos em jejum superiores àquelas mulheres sem obstrução arterial ($p = 0,045$, Mann-Whitney). O estudo do polimorfismo C807T no gene GPIA foi feito em 43 mulheres (86 cromossomos). Foi descrita a frequência de 61 (70,93%) e 25 (29,07%) para os alelos C e T, respectivamente. A homozigose para o alelo C (CC) foi observada em 22 (51,2%) mulheres; a heterozigose (CT) e homozigose para o alelo T (TT) foi observada em 17 (39,5%) e quatro (9,3%) mulheres, respectivamente. Não foi observada diferença entre a frequência do polimorfismo C807T nos dois grupos de mulheres estudadas, assim como não foi encontrada associação entre o polimorfismo e os principais fatores de risco clássicos para DAC. **Conclusão:** Os resultados preliminares sugerem que o polimorfismo C807T no gene GPIA parece não estar associado à DAC nas mulheres estudadas. Entretanto, análises que envolvam atividade plaquetária e polimorfismos nos genes de GPs, associadas aos dados clínicos, poderão auxiliar no estabelecimento de novos marcadores para a DAC. **Palavras-chave:** Doença arterial coronariana; plaquetas; polimorfismos gênicos; mulheres.

244. EFEITO DE ESTATINAS SOBRE O POTENCIAL DE GERAÇÃO DE TROMBINA EM IDOSOS DIABÉTICOS COM E SEM COMPROMETIMENTO COGNITIVO

Carvalho MDG^a, Gonçalves GS^{a,b}, Rios DRA^c, Bicalho MA^d, Dusse LMS^a, Thomassen MC^e, Hackeng T^e

^a Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Centro Universitário Newton Paiva, Belo Horizonte, MG, Brasil

^c Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ), São João Del Rei, MG, Brasil

^d Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^e Department of Biochemistry, Cardiovascular Research Institute Maastricht, Maastricht University, Maastricht, The Netherlands

Introdução: A contribuição de fatores de risco vasculares no espectro de demências tem sido amplamente reconhecida. Dislipidemia, diabetes e hipertensão são achados frequentes em idosos. Por outro lado, um estado pró-trombótico tem sido também observado nesses pacientes. Estudos prévios tem reportado níveis plasmáticos aumentados de marcadores de ativação de plaquetas e do sistema de coagulação, particularmente em pacientes diabéticos. Cabe ressaltar que o uso de estatinas é recomendado em diabetes para controlar dislipidemia e, adicionalmente, tem se mostrado benéfico para controlar a ativação do sistema hemostático, o que sugere um possível mecanismo pelo qual estatinas diminuem risco de tromboembolismo. O teste de geração de trombina tem sido largamente usado para avaliar o status hemostático resultante de forças pró e anticoagulantes, seja em indivíduos em uso ou não de drogas anticoagulantes, enquanto o teste de resistência à proteína C baseado na geração de trombina identifica indivíduos em risco de eventos tromboticos por causa de fatores que afetam a via da anticoagulação natural mediada pela proteína C. **Objetivo:** Pesquisar o efeito de estatinas sobre o potencial de geração de trombina em idosos diabéticos com e sem comprometimento cognitivo. **Material e métodos:** Foram analisados 48 pacientes com provável doença de Alzheimer (DA), diabéticos ($n = 9$) ou não ($n = 39$), em uso ($n = 12$) ou não ($n = 36$) de estatina, por meio do método de CAT (Calibrated Automated Thrombogram), para avaliação do potencial de trombina expresso como ETP (Endogen Thrombin Potential) e Pico (Peak), adicionados ou não de APC (Activated Protein C). **Resultados:** Surpreendentemente, foram contrários ao esperado, uma vez que o potencial de geração de trombina, por meio dos parâmetros ETP e Peak, adicionados ou não de APC, se mostrou significativamente mais elevado nos pacientes não diabéticos, comparados aos diabéticos, o que indica um maior estado de hipercoagulabilidade e de resistência à ação da APC que possivelmente favorece o agravamento do processo neurodegenerativo. **Discussão:** Para explicar esse achado inesperado, é possível que pacientes diabéticos estivessem com bom controle glicêmico e em uso de drogas antidiabéticas, o que resultou em um efeito positivo para o sistema hemostático. Curiosamente, neste estudo foi também observado aumento significativo no potencial de geração de trombina, por meio dos parâmetros acima mencionados, em pacientes com DA não em uso de estatinas, comparados aos usuários (também diabéticos), o que lhes confere também um maior estado de hipercoagulabilidade, condição que pode estar contribuindo para o declínio cognitivo e demência. **Conclusão:** Os dados analisados em conjunto permitem sugerir um efeito positivo do uso de estatinas, direta ou indiretamente, sobre o sistema hemostático de idosos com DA e diabéticos, o que parece prevalecer sobre os efeitos nocivos provocados pela hiperglicemia. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (Capes) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

245. DOENÇA DE VON WILLEBRAND TIPO 3 – RELATO DE 21 ANOS DE ACOMPANHAMENTO

Figueiredo SSLV^a, Santos GLD^b, Santos BLR^c, Moreira GAS^c, Peixoto LMFP^c, Campos MSM^c, Sousa RQM^c, Sampaio TS^c, Weyne YP^c

^a Hemocentro da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil

^b Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campina Grande, PB, Brasil

^c Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: A doença de von Willebrand (DvW) é o distúrbio hemorrágico hereditário mais comum, causado por mutação no cromossomo 12, cujo

fenótipo é caracterizado por deficiências quanti/qualitativas do fator de von Willebrand (fvW). Esse é uma glicoproteína multimérica responsável pela promoção da adesão plaquetária ao colágeno subendotelial (nos casos de vasos sanguíneos lesados) e pela condução do fator VIII da coagulação que impede sua degradação precoce pelas proteases sanguíneas. Assim, o fvW garante, junto com os outros mecanismos envolvidos, uma adequada hemostasia primária e secundária. De acordo com a sua disfunção (numérica ou funcional), a doença é classificada em tipos 1, 2 e 3. No tipo 2 há defeito no funcionamento da molécula. Já nos tipos 1 e 3, a deficiência é quantitativa. O tipo 3 é considerado a forma grave, recessiva e raríssima da doença, responsável por três a cinco casos por milhão de pessoas. Nesse tipo, os portadores produzem níveis ínfimos do fvW (menores do que 1%). O tipo 3 se apresenta, portanto, com manifestações hemorrágicas graves, semelhantes às da hemofilia. **Objetivo:** Descrever o caso de uma portadora de doença de von Willebrand tipo 3 acompanhada há 21 anos no Hemocentro da Paraíba. **Relato de caso:** M.P.S.N., feminino, 36 anos, parda, solteira, aposentada, com ensino médio completo e procedente de Santa Rita (PB). Foi encaminhada ao ambulatório do Hemocentro da Paraíba em 17/08/1993. Relatou episódios hemorrágicos gastrointestinais, nasais, cutâneos e intramusculares desde o nascimento que a levaram até a internamento em UTI e necessidade de uso constante de plasma fresco, concentrado de hemáceas, ácido aminocapróico, ácido tranexâmico e vitamina K. Relatou ainda falecimento de irmã aos três anos decorrente de hemorragia intracraniana não traumática. Foi então aventada a hipótese diagnóstica de doença de von Willebrand. Na época foi feito o TS de Ivy (> 15min) e o TTPa apresentava-se prolongado (81,4s), com os demais parâmetros do coagulograma normais. O fator de von Willebrand ainda não era dosado em João Pessoa (sede do Hemocentro PB). Passou a ser acompanhada com frequência e medicada com fator VIII de média e alta pureza durante hemorragias e procedimentos invasivos, além do ácido tranexâmico e DDAVP (desmopressina). Apresentou reações alérgicas ao fator Beriate P e chegou a configurar quadro de reação anafilática. Durante todo o acompanhamento suas sorologias foram normais. Em 21/11/2011, a terapia com fator de von Willebrand/fator VIII (e esporadicamente DDAVP) foi instituída. Apenas em 24/07/2013 confirmou o diagnóstico de DvW tipo 3, com dosagem do fvW < 1%, conferido duas vezes, quando então iniciou profilaxia com o fvW todas as segundas e sextas-feiras, permanentemente. De 08/10/2013 a 25/07/2014 apresentou, mesmo com a profilaxia, três episódios de metrorragia e um de otorragia, porém sem ocorrência de hemorragia grave, como apresentara até então.

246. ASSOCIATION BETWEEN PREDICTED FVIII LEVELS AND RISK OF BLEEDING EPISODES IN CLINICAL TRIALS WITH TUROCTOCOG ALFA, A NEW RFVIII PRODUCT FROM NOVO NORDISK

Ozelo MC^a, Veljkovic D^b, Klamroth R^c, Misgav M^d, Nielsen R^e, Groth A^e

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^b Institute for Mother and Child Health Care of Serbia, Belgrade, Serbia

^c Hämophiliezentrum/Gerinnungssprechstunde, Berlin, Germany

^d Chaim Sheba Medical Center affiliated to the Sackler School of Medicine, Tel Aviv, Israel

^e Novo Nordisk A/S, Soeborg, Denmark

Background: Novo Nordisk has conducted phase III clinical trials (Guardian™) with the new rFVIII product turoctocogalfa in adult (≥ 12 years) and pediatric (< 12 years) patients with severe hemophilia A. In these trials, patients received prophylactic turoctocogalfa doses in the range 20-50 IU/kg (adult patients) or 25-60 IU/kg (pediatric patients); the doses were adjusted according to bleeding patterns of the individual patient during the trial. **Aims:** To demonstrate the association between predicted FVIII:C and estimated bleeding rates for spontaneous and traumatic bleeding episodes in adult and pediatric patients. **Methods:** All patients (n = 214) reported detailed information about dosing and bleeding episodes (spontaneous and traumatic), including the time points of these events, in diaries. Initial results showed that the estimated annualized bleeding rates (ABRs) increased with time since the latest prophylactic dose. Furthermore, a subset of patients (n = 50) underwent pharmacokinetic assessments. Based on the observed PK properties and the patient-reported information, a profile of predicted FVIII:C at all time points during the trial was constructed for each patient and correlated to

the time pattern of reported bleeding episodes. This amounts to a population pharmacodynamic analysis of the association between predicted FVIII:C and the risk of experiencing either a spontaneous or traumatic bleeding episode. FVIII:C profiles from patients (n = 67) who did not experience a bleeding episode during the trial also contributed to the analysis, whereas patients (n = 3) with insufficient reporting of dosing were excluded. **Results:** In all, the 211 patients were exposed to turoctocogalfa in daytime hours (06.00-24.00) for a total of 76.1 patient years (58.1 patient years for adults and 18.0 patient years for children) and reported a total number of 550 bleeding episodes during these hours (326 spontaneous, 188 traumatic, and 36 not categorized). Overall, the results of the analysis demonstrate that the risk of experiencing a bleeding episode decreases with increasing FVIII:C. The protection provided by FVIII:C in the range of 1-5%, corresponding to moderate hemophilia, appears to be better for pediatric than for adult patients, particularly for spontaneous bleeding episodes. Inter-patient variability of bleeding risk at any specified FVIII:C was substantial in both age groups. **Conclusion:** The protective effect of increasing FVIII:C appears more pronounced for pediatric vs. adult patients, and for spontaneous vs. traumatic bleeding episodes. The high variability between patients reflects the global character of the trials, spanning patients with highly different treatment histories, reflecting different economic resources in the participating regions. The estimated relations between predicted FVIII:C and bleeding risk could serve as a model to predict mean ABRs, not only in trials with multiple dosing regimens of standard FVIII products, but also in trials using next generation FVIII compounds with prolonged PK profiles.

247. INDUÇÃO DE IMUNOTOLERÂNCIA EM PACIENTES ADULTOS COM HEMOFILIA A GRAVE E INIBIDORES DE ALTO TÍTULO DE LONGA DATA

Medina SS^a, Sambo ALA^a, Montalvão SAL^a, Ozelo MC^{a,b}

^a Unidade de Hemofilia Cláudio Luiz Pizzigatti Corrêa, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: O desenvolvimento de inibidores do fator VIII (FVIII) é a complicação mais importante na hemofilia A (HA). A terapia de indução de tolerância imune (ITI) é o tratamento para erradicação dos inibidores e consiste na administração frequente de FVIII. A ITI tem maior probabilidade de resposta se iniciada na infância e até cinco anos do aparecimento do inibidor. No Brasil, a disponibilidade limitada de concentrados de fator até 2011 inviabilizava a ITI e muitos pacientes convivem com inibidor há muitos anos. **Objetivo:** Descrever nossa experiência na terapia de ITI para pacientes adultos com HA e inibidor de longa data. **Material e métodos:** Desde abril de 2011 acompanhamos a ITI de três pacientes com HA grave. **Relatos de caso:** Paciente 1: S.B., 39 anos, primeiro inibidor de 5 UB (04/2001) e pico histórico 13,5 UB (05/2001). Fazia uso de agentes *bypass* desde os 26 anos com média de 21 sangramentos (11 hemartroses) por ano. Consumo médio anual de 1.800 UI/kg de concentrado de complexo protrombínico (CCP), 1.560 UI/kg de concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado (CPPa) e 0,7 mg/kg de fator VII ativado recombinante (rFVIIa) (2008 a 2010). Iniciou ITI em 18/04/2011 com concentrado de FVIII derivado de plasma (pdFVIII) na dose de 2.000 UI (27 UI/kg) 3x/semana. O título ao início da ITI era 0,9 UB, não houve elevação do título durante o tratamento e não necessitou de agentes de *bypass*. Em 27/07/2011, na 14ª semana da ITI, apresentou resposta completa à ITI. Atualmente em profilaxia com 500 UI de pdFVIII (6,7 UI/kg) diariamente, sem sangramentos. Paciente 2: J.J.S., 42 anos, com primeiro inibidor detectado aos 27 anos, com título já correspondente ao pico histórico de 46 UB, quando iniciou tratamento com produtos *bypass*. Antes da ITI apresentava articulações-alvo em ambos os cotovelos, com uma média de 12,6 sangramentos (8,3 hemartroses) por ano e consumo médio anual de 3.057 UI/kg de CPPa e 1,7 mg/kg de rFVIIa, além de 516 UI/kg de CCP. Iniciou ITI em 03/02/2014, com 3.500 UI (48 UI/kg) de pdFVIII 3x/semana, com título de 0 UB. Apresentou um pico de 7,8 UB na semana 2 e atualmente encontra-se na vigência da ITI, com título menor do que 1 UB desde a semana 12 do tratamento, sem sangramentos e sem uso de agentes de *bypass*. Paciente 3: E.J.S., 48 anos (irmão de J.J.S.), com inibidor desde março/2003, primeiro título de 8,8 UB e pico

histórico de 28 UB (10/2005). Média de 5,3 sangramentos (duas hemorragias) por ano e consumo anual médio de CPPa 3.307 UI/kg e rFVIIa 2,22 mg/kg (2008 a 2010). A média baixa de sangramentos e o consumo de agentes *bypass* se justificava pela baixa aderência ao tratamento até 2009. Em 2010 iniciou profilaxia com CPPa 6.000 UI (83 UI/kg) 3x/semana por causa de sangramentos recorrentes no músculo psoas. Iniciou ITI em 15/08/2013, com título de 6,2 UB, na dose de 4.000 UI (53 UI/kg) de pdFVIII em dias alternados, associada a profilaxia com CPPa. Apresentou um pico de inibidor de 13,25 UB na semana 4 da ITI. Na semana 13 foi suspensa a profilaxia com CPPa. Atualmente com título de inibidor menor do que 2 UB desde a semana 17, com boa resposta a FVIII. **Conclusão:** A experiência adquirida com esses casos ilustra a importância da indicação da ITI em pacientes com inibidor que apresentem muitos sangramentos, já que essa modalidade terapêutica é uma opção eficaz para reduzir o número de sangramentos e melhorar a resposta dos pacientes à terapia de reposição com concentrado de FVIII.

248. LEVANTAMENTO DOS PADRÕES DE TRATAMENTO EM HEMOFILIA A E B COM E SEM INIBIDORES NO BRASIL (LEVANTH 2013)

Medina SS^a, Sambo ALA^a, Ozelo MC^{a,b}

^a Unidade de Hemofilia Cláudio Luiz Pizzigatti Corrêa, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^b Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Introdução. O tratamento da hemofilia evoluiu muito nos últimos anos, diminuiu a mortalidade e aumentou a qualidade de vida dos pacientes. Iniciativas que visam a avaliar os padrões de tratamento da hemofilia são importantes para conhecer melhor as limitações da abordagem terapêutica empregada e promover mudanças, com o objetivo de oferecer a todos os pacientes o melhor tratamento. No Brasil, a maior oferta de concentrados de fator para o tratamento da hemofilia a partir de 2011 modificou o cenário do tratamento dessa doença no país, de modo que se espera uma mudança importante no perfil das necessidades dos pacientes com hemofilia nos próximos anos. **Objetivo:** Traçar um perfil atual do tratamento da hemofilia no Brasil para identificar aspectos que ainda podem ser melhorados, além da maior disponibilidade de concentrados de fator. **Material e métodos:** Profissionais envolvidos no tratamento da hemofilia de 34 centros de tratamento distribuídos por todo o País foram convidados a participar do estudo por meio do preenchimento de um questionário com perguntas estruturadas acerca do tratamento oferecido. **Resultados:** Onze centros (32%) retornaram os questionários preenchidos com respostas válidas. A maioria dos profissionais que responderam era constituída por enfermeiros e a média de tempo de dedicação ao tratamento de pacientes com hemofilia era de 9,6 anos. As cinco macrorregiões brasileiras e 4.468 indivíduos (42% dos 10.923 pacientes com hemofilia registrados em 2012) foram representados por esses 11 centros. Entre os pacientes com hemofilia A (HA) grave sem inibidor, 47% de 0 a dois anos e 32% de três a 12 anos ainda fazem tratamento sob demanda. Para hemofilia B (HB) grave, os valores foram 33% e 40%, respectivamente. Considerando apenas os pacientes de 0 a 2 anos, 53% dos pacientes com HA e 67% dos pacientes com HB fazem profilaxia primária. Entre os pacientes graves acima de 18 anos com HA ou HB predomina o tratamento sob demanda. Com relação aos 199 pacientes com HA com inibidores, 47,2% encontram-se em tratamento de indução de imunotolerância (ITI), enquanto 52,3% nunca foram submetidos a ITI. Dos 182 pacientes com HA com inibidores que estão em tratamento com agentes de *bypass*, 12% estão em profilaxia com agentes de *bypass* e em ITI, mas, considerando apenas os pacientes de 0 a 12 anos (n = 69) e de 13 a 24 anos (n = 55), 19% e 13% respectivamente estão em profilaxia com agente de *bypass*, mas não estão em ITI. Quanto aos fatores que interferem no oferecimento do melhor cuidado aos pacientes com hemofilia, foram eleitos como mais importantes os problemas sociais, a indisponibilidade de profissional para o treinamento de autotransfusão, a adesão insuficiente ao tratamento e a dificuldade de acesso dos pacientes ao centro de tratamento. Cinco dos 11 centros referiram usar sempre ou frequentemente o diário de infusões dos pacientes para monitorar a adesão ao tratamento. Foram considerados elegíveis para procedimentos ortopédicos 306 pacientes (média de 34%), mas apenas quatro dos 11 centros dispõem de uma equipe ortopédica capacitada e

atuante no tratamento da hemofilia. **Conclusão:** Foi possível caracterizar o tratamento atual da hemofilia no Brasil e identificar aspectos importantes do seguimento global que ainda podem melhorar e vão além da oferta de concentrados de fator.

249. UTILIZAÇÃO DA ELETROMIOGRAFIA DE SUPERFÍCIE EM PACIENTES COM HEMOFILIA SUBMETIDOS AO TREINAMENTO AQUÁTICO

Feldberg G, Matta M, Ricciardi J, Sambo A, Medina S, Ozelo MC

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

Introdução: A ocorrência de sangramentos recorrentes em paciente com hemofilia frequentemente provoca comprometimentos musculoesqueléticos que desencadeiam a artropatia hemofílica e causam limitações na capacidade funcional. O exercício executado em ambiente aquático é uma opção segura e efetiva para a melhoria da capacidade funcional, que está comprometida nos pacientes que apresentam artropatia hemofílica. No entanto, nem sempre é possível obter dados específicos que comprovem o ganho funcional relacionado às atividades físicas. Nesse contexto, a eletromiografia (EMG) é uma ferramenta eficaz para a avaliação objetiva da função muscular. **Objetivo:** Analisar o uso da eletromiografia na avaliação da função muscular dos músculos da coxa em pacientes com hemofilia submetidos a um programa de atividade aquática. **Material e métodos:** Pacientes com hemofilia A e B grave foram submetidos à avaliação eletromiográfica de superfície dos músculos da coxa (vasto lateral, vasto medial e bíceps femoral), na qual foi feita a contração voluntária máxima (CVM) e o teste de força com o uso do dinamômetro, em que o valor do pico das repetições foi registrado para análise dos dados. Após a avaliação inicial, os pacientes foram submetidos a duas sessões semanais de 50 minutos durante 12 semanas de atividade aquática funcional. As respostas da EMG foram expressas em microvolts (mV) e submetidas à análise estatística com o teste não paramétrico de Wilcoxon. Foram 30 pacientes entre seis e 38 anos (idade média de 13 ± 8,7), 22 com hemofilia A grave e 8 com hemofilia B grave, que não praticavam atividades físicas regulares. Por diferentes razões, 28/30 pacientes iniciaram profilaxia secundária durante o ano anterior ao início do programa de atividade aquática. **Resultados:** Na avaliação pré e pós intervenção, observou-se um aumento na força muscular de 25,3% nos músculos extensores do joelho direito (p < 0,005) e 15,7% no joelho esquerdo (p < 0,02). A força muscular dos flexores do joelho mostrou um aumento de 23,3% (p < 0,005) no lado direito e 14,6% (p < 0,002) no lado esquerdo. A análise da função muscular, com base no aumento da atividade elétrica, demonstrou uma diferença estatisticamente significativa entre as avaliações pré e pós atividade aquática para todos os músculos da coxa direita (vasto lateral, p < 0,05; vasto medial, p < 0,02; e bíceps femoral, p = 0,35) e no lado esquerdo (vasto lateral, p < 0,004; vasto medial, p < 0,02; e bíceps femoral, p < 0,02). **Conclusão:** Os resultados eletromiográficos comprovaram o aumento na força e na função dos músculos da coxa em pacientes com hemofilia submetidos a um programa de intervenção aquática. A EMG de superfície demonstrou ser um método seguro e eficaz para a avaliação muscular em pacientes com hemofilia.

250. HEMOFILIA, VIVENDO A LIBERDADE: DOCUMENTÁRIO

Souza VN^a, Barbosa SM^b, Pereira AS^a, Matos AIEL^b, Silva RPM^b, Filho LIP^b

^a Faculdade de Ensino e Cultura do Ceará (FAECE), Fortaleza, CE, Brasil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: Para comemorar o Dia Mundial da Hemofilia em 2014, um paciente com hemofilia atendido no ambulatório de coagulopatias do Hemocentro do Ceará idealizou a produção de um documentário. Nesse filme foi possível apresentar a qualidade de vida dos pacientes com coagulopatias nos últimos anos com o avanço do tratamento para essa patologia. **Objetivo:** Relatar os benefícios adquiridos com os tratamentos oferecidos às pessoas com hemofilia nos últimos anos. **Relato de experiência:** Análise do documentário que apresenta o relato das pessoas com hemofilia atendidas no serviço por meio de entrevista feita com os pacientes e profissionais. O documentário aborda diversas questões sobre como é viver com hemofilia nos dias de hoje, além de salientar as grandes conquistas que a profilaxia proporcionou aos pacientes. Foi produzido de forma independente, de fevereiro a março de 2014. Mostra

ações que proporcionaram uma melhor qualidade de vida aos pacientes com hemofilia. Os resultados positivos dos últimos anos no tratamento das pessoas com coagulopatias alcançaram reconhecimento e hoje se usam parâmetros de qualidade mundial para a assistência desses pacientes. O documentário pode ser acessado pelo link [https://www.youtube.com/watch?v=ki-9YKEPUeQ]. **Conclusão:** Foi percebida uma redução significativa de casos de abandono do tratamento por parte dos pacientes e aumento na qualidade de vida dessas pessoas, como práticas de esportes, redução de sangramentos graves e lesões articulares e estímulo à prática de atividades físicas regulares. Percebe-se como as pessoas que vivem com coagulopatias ganharam mais independência e autonomia com o avanço no tratamento dessas patologias, além do empenho da equipe multidisciplinar que acompanha esses pacientes nos centros tratadores de hemofilia.

251. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO RISCO DE INIBIDOR ASSOCIADO AO USO DE CONCENTRADO DE FATOR VIII RECOMBINANTE EM PACIENTES COM HEMOFILIA A PREVIAMENTE TRATADOS (BRASIL-RFVIII: BRAZILIAN STUDY OF INHIBITOR LINKED TO RECOMBINANT FATOR VIII)

Prezotti ANL^a, Oliveira L^b, Filho LIPF^c, Orletti M^a, Ferreira C^d, Marques AP^e, Villaça PR^f, Araujo F^g, Medina S^h, Ozelo MC^h

- ^a Centro de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES), Vitória, ES, Brasil
- ^b Centro Regional de Hemoterapia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil
- ^c Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, CE, Brasil
- ^d Hemocentro do Estado do Rio Grande do Sul (HEMORGS), Porto Alegre, RS, Brasil
- ^e Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil
- ^f Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil
- ^g Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil
- ^h Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Uma das principais complicações da hemofilia A (HA) é a formação de anticorpos neutralizadores da atividade coagulante (inibidores) do fator VIII (FVIII). Vários fatores de risco genéticos e ambientais estão relacionados à susceptibilidade ao desenvolvimento dos inibidores. Entre os fatores de risco não genéticos é controversa a influência do tipo de concentrado de fator usado na terapia de reposição (plasmático ou recombinante) e se a troca de um tipo de concentrado de fator por outro está associada a um maior risco de desenvolvimento de inibidores. Desde agosto de 2013 é fornecido no Brasil o concentrado de FVIII recombinante (rFVIII) para tratamento de pacientes com HA. **Objetivo:** Avaliar a ocorrência de inibidores em pacientes com HA (FVIII < 2 UI/dL) que faziam uso exclusivo de concentrado de FVIII derivado de plasma (pdFVIII) e passaram a usar apenas rFVIII. **Material e métodos:** Foram convidados pacientes de diversos centros de tratamento de hemofilia no Brasil que trocaram o pdFVIII por rFVIII, independentemente da idade. Foram coletadas amostras de sangue para avaliação da presença de inibidor, imediatamente antes da troca e após 10, 20 e 50 dias de exposição (DE) ao rFVIII. Foram excluídos os casos que apresentavam inibidor detectável imediatamente antes da troca. Pacientes com história prévia de inibidor, mas com título negativo na vigência do tratamento com concentrado de FVIII, foram incluídos. Inibidor foi considerado positivo quando quantificação > 0,6 UB em pelo menos duas amostras consecutivas. Nessa avaliação preliminar foram incluídos até o momento 234 pacientes (12,6 ± 7,5 anos, variação de 11 meses a 31 anos), provenientes de oito centros das diversas regiões do País, que completaram 50DE com rFVIII. **Resultados:** A maioria dos casos apresentava > 100 DE ao pdFVIII anteriormente à troca. Ao todo foram observados quatro casos que apresentaram inibidor > 0,6 UB e em três casos a presença de inibidor após foi confirmada. Dois casos, quatro e cinco anos, com > 100 DE antes da troca, apresentaram baixo título de inibidor (3,9 e 3,6 UB, respectivamente). Foi mantido o tra-

tamento profilático regular com rFVIII, em altas doses. Um paciente de 11 meses, com 7 DE ao pdFVIII antes da troca, evoluiu com inibidor de alto título (pico 8,7 UB) no 15 DE ao rFVIII. No momento, está em uso de agente *bypass* e aguarda início de ITI. **Discussão:** Recentemente no Brasil foi introduzido o uso de rFVIII para o tratamento dos pacientes com HA com até 30 anos. Na avaliação apresentada estão os dados preliminares dos casos que completaram pelo menos 50 DE ao rFVIII provenientes de centros de diversas regiões do País. Entre os casos positivos até o momento, todos eram crianças, menores de 10 anos. A avaliação dos demais fatores de risco para inibidor deverá ser cuidadosamente analisada. No entanto, chama a atenção que dois casos com inibidor de baixo título já apresentavam > 100 DE ao pdFVIII antes da troca. O único caso até o momento com inibidor de alto título havia sido pouco exposto ao pdFVIII. **Conclusão:** Acreditamos que embora o risco pareça ser baixo, é importante neste momento o seguimento regular dos casos diante da troca do tipo de produto.

252. HEMOFILIA B LEYDEN – RELATO DE DOIS CASOS

Maciel RG, Villaça PR, Okazaki E, Valim AKZ, Rocha TRF, Carneiro JDA, D'Amico EA

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A hemofilia B foi reconhecida como entidade distinta da hemofilia A em 1947 e descrita como deficiência do fator IX (doença de Christmas) por Aggeler em 1952. Estudo americano de 1994 estimou prevalência de 3.640 casos nos EUA. De acordo com o Ministério da Saúde, havia 1.801 casos no Brasil em 2012. Essa doença tem fenótipo semelhante ao da hemofilia A e, assim como a última, tem distintos espectros. A gravidade dos sangramentos está diretamente relacionada à intensidade da deficiência do fator IX e é classificada sendo classificada em grave (FIX < 1% do normal), moderada (FIX entre 1-5%) e leve (FIX > 5% e < 40%). Diferentemente da hemofilia A, o tipo B não costuma ser causado por inversões ou deleções cromossômicas. A maioria das alterações moleculares causadoras da hemofilia B é mutação de ponto que resulta em mutação missense. Frequentemente o fator mutado detém pequena ação, o que resulta em fenótipo mais brando. A hemofilia B Leyden é uma variante da hemofilia B causada por uma mutação na região promotora do gene que codifica o F9. Essa região contém um elemento responsivo a andrógenos, e a presença de outros fatores de transcrição assume a expressão da proteína. Há ascensão dos níveis de FIX durante a puberdade, com resolução das manifestações clínicas hemorrágicas e manutenção de atividade do FIX elevada na idade adulta. O fenótipo da doença, inicialmente grave, transforma-se em um fenótipo compatível com hemofilia leve. Usualmente, observamos ascensão do FIX de valores inferiores a 1% para valores superiores a 20%. **Relato de dois casos:** Relatamos neste trabalho dois casos de hemofilia B Leyden em primos de primeiro grau. Ambos fazem seguimento no nosso serviço. Caso 1: D.T.B., 20 anos, sexo masculino. Recebeu o diagnóstico de hemofilia B com um ano e três meses, após queda da própria altura com ferimento em lábio superior que sangrou excessivamente. Apresentou durante toda a infância valores de FIX compatíveis com hemofilia B grave (FIX < 1%) e diversas hemartroses e hematomas de repetição. Seu último episódio hemorrágico foi uma hemartrose do quadril em 10/10/2008, aos 14 anos, com FIX de 3,5%. No ano em questão, ainda aos 14 anos, observamos brusca ascensão na atividade do FIX para 26%, com dosagens posteriores mantidas acima de 30%. A última dosagem é de 12/03/2014, com 51% de atividade do FIX. Caso 2: G.C.M., 15 anos, sexo masculino, primo de primeiro grau do primeiro paciente. Recebeu o diagnóstico de hemofilia B aos nove meses, quando sofreu corte em frênulo labial superior após trauma. Durante a infância, apresentou hemartroses e hematomas cutâneos de repetição e os valores de atividade do FIX chegaram a 3,5%. Sua última manifestação hemorrágica ocorreu em 11/07/2008, aos oito anos, quando apresentou hematoma pré-tibial. Cerca de quatro anos depois, aos 12 anos, houve rápido aumento da atividade do FIX para 20%, com manutenção de níveis elevados. A última medida foi feita em janeiro de 2014, aos 15 anos, com atividade de 39% do FIX. **Conclusão:** Chamamos atenção para a necessidade de se observar em hemofílicos B se há variação do fenótipo com melhoria na adolescência. São necessárias novas dosagens da atividade do fator IX para que essa variante seja identificada. Apesar disso, o aconselhamento genético continua importante em possíveis portadoras, pois a mutação permanece na família e ao nascimento e durante, a infância, a criança terá fenótipo grave, com risco hemorrágico.

253. HEMOFILIA A ADQUIRIDA: EXPERIÊNCIA DE UM SERVIÇO DE REFERÊNCIA

Cordeiro AC, Villa PR, Okazaki E, Valim AKZ, Sandoval EPN, Rocha TRF, D'Amico EA

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A hemofilia A adquirida constitui uma patologia rara, com incidência de 1-1,4 milhão de habitantes/ano, causada por autoanticorpos (inibidores) contra o fator VIII (FVIII). Acomete mais frequentemente a população idosa e pode estar associada a diversas condições clínicas, tais como neoplasia, puerpério, doenças autoimunes ou exposição a drogas. Todavia, é de causa idiopática em aproximadamente 50% dos casos. Apresenta-se como hemorragia grave, predominantemente sangramento cutâneo-mucoso, em indivíduos sem história pessoal ou familiar prévia de coagulopatias. Laboratorialmente, caracteriza-se por contagem plaquetária normal, coagulograma com tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) prolongado, sem correção com mistura com plasma normal, além da atividade do FVIII diminuída, com demonstração da presença do inibidor contra o FVIII. O tratamento visa ao controle do sangramento e à erradicação do inibidor, além do tratamento da doença de base, quando presente. **Material e métodos:** Revisão de prontuário de paciente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. **Resultados:** Nos últimos 19 anos, foram diagnosticados em nosso serviço 20 pacientes com hemofilia A adquirida. Em 95% dos casos, a presença de sangramento anormal foi o motivo da investigação e o tempo entre o início do sangramento e o diagnóstico foi em média de 17 dias (5-180 dias). A idade média ao diagnóstico foi de 60,8 anos (26 a 86 anos) e 55% dos pacientes eram do sexo masculino. Em 40% dos casos nenhuma condição clínica associada foi detectada. Neoplasias e doenças dermatológicas foram as condições mais encontradas nos pacientes com doenças subjacentes. Em nossa casuística não tivemos caso associado ao puerpério. Os tipos de sangramento mais comuns foram equimoses, hematomas (subcutâneos e musculares), sangramentos de retroperitônio e gastrointestinais. O título do inibidor ao diagnóstico variou de 1,4 a 1.630 UB. O tratamento mais frequente foi a associação de corticoide (CE) com azatioprina (AZA) (68%) ou com ciclofosfamida (CF) (25%). Houve recaída em 14% dos pacientes. Sangramento fatal ocorreu em 15,7% dos casos e remissão espontânea foi evidenciada em 10% dos casos. Foram detectadas cinco iatrogenias durante o manejo desses pacientes, a maioria procedimentos invasivos sem preparo, previamente à avaliação hematológica. **Conclusão:** Nossos dados são consistentes com dados da literatura quanto às características clínico-epidemiológicas e doenças associadas, exceto pela ausência de inibidor associado ao puerpério. Sangramentos iatrogenos associados a procedimentos invasivos são potencialmente fatais. São fundamentais a suspeição clínica e o diagnóstico precoce. O tratamento com CE+AZA apresentou uma taxa de resposta de 70%, sem complicações infecciosas associadas, e pode ser uma opção terapêutica nesse grupo de pacientes.

254. COMPORTAMENTO HEMOSTÁTICO NO PARTO E PUERPÉRIO DE MULHERES COM DOENÇA DE VON WILLEBRAND (DVW) CADASTRADAS NO HEMOCENTRO DE BELO HORIZONTE (HBH)

Namen-Lopes MSS^a, Brener S^a, Halabi NN^a, Felisardo G^a, Cronemberger J^a, Rodrigues-Velloso C^b

^a Fundação Hemominas, Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Governador Valadares, MG, Brasil

Introdução: A doença de Von Willebrand (DVW) é uma coagulopatia hereditária de caráter autossômico dominante ou recessivo, com prevalência estimada em 1% da população geral, e se deve a defeitos quantitativos (tipos 1 e 3) ou qualitativos (tipo 2) no fator de von Willebrand (FVW). Acomete ambos os sexos, mas mulheres em idade reprodutiva estão mais expostas a desafios hemostáticos por causa da menstruação e do parto. Na gestação normal, bem como na DVW, vários fatores de coagulação (I, VII, VIII, X, FVW) se elevam no segundo e terceiro trimestres e produzem um estado procoagulante global. Na DVW o aumento fisiológico do FVW pode promover hemostasia eficaz para algumas mulheres no momento do parto. No entanto, por se tratar de uma doença heterogênea, principalmente para aquelas com tipo 2 (e seus subtipos) e tipo 3, pode

ser necessária a terapia de reposição com FVIII/FVW. **Objetivo:** Avaliar a ocorrência de hemorragia no pós-parto imediato e tardio das mulheres com DVW. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo de 110 prontuários de mulheres com DVW assistidas em ambulatório de hematologia de 1985 a 2012, por questionário padronizado, e dados analisados por programa SPSS 17.0. **Resultados:** Informaram gestação 67 (60,9%) das 110 avaliadas com DVW. A informação do comportamento hemostático na primeira gestação foi possível para 56 (83,6%) mulheres, das quais 18 (32,1%) referiram hemorragia e 38 (67,9%) negaram sangramento no parto imediato ou puerpério tardio. Entre as 18 mulheres com relato de hemorragia no parto e puerpério, oito (44,4%) haviam apresentado sangramento no parto imediato e 10 (55,5%) no pós-parto tardio. Delas, oito (44,4%) ainda não sabiam do diagnóstico da DVW no momento do primeiro parto. Das 10 (56%) mulheres com diagnóstico prévio de DVW, sete (70%) receberam tratamento profilático (1 DDAVP e 6 FVIII/FVW), sem necessidade de transfusão de concentrado de hemácias posterior e em uma delas, pertencente ao grupo que não recebeu profilaxia, foi feita a hemotransfusão. Entre as 38 mulheres que não apresentaram sangramento imediato ou tardio no parto, 28 (73,7%) sabiam do diagnóstico da DVW no momento do primeiro parto e sete (25%) receberam tratamento profilático prévio (1 DDAVP e 6 FVIII/FVW). A anotação do tipo de parto foi possível para 22 gestações (13 via vaginal e nove cesarianas). Tiveram tido dosagens de FVIII, FVW:Ag e FVW:RCo mensuradas na 34^a semana de gestação 16 mulheres (28,6%), e seis (37,5%) dessas, apesar de parâmetros maiores do que 50 UI/dL, relataram sangramento. **Conclusão:** Ainda hoje é um desafio para os obstetras, anestesiologistas e hematologistas o preparo para o enfrentamento de complicações hemorrágicas no parto. A DVW é heterogênea, com subtipos e riscos hemostáticos diferenciados. Na DVW tipo 1, habitualmente poderemos ter evolução satisfatória sem sangramento no parto, mesmo sem profilaxia. Entretanto, subtipos funcionais com dosagens de fatores (FVIII, FVW:Ag) elevados mas FVW:RCo baixo apresentam risco de sangramento e necessitam de profilaxia e terapia assistida. Um estudo prospectivo de gestantes com DVW trará informações valiosas na gestão do risco hemostático nesse grupo. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) APQ-03515-10, Ministério de Ciência e Tecnologia/ Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)/ Fundo Setorial de Saúde (CT-Saúde) 401962/2010-5. Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Minas Gerais (Hemominas).

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: TROMBOSE

255. HIGH PLATELET TURNOVER AND CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS AFTER VASCULAR SURGERY

Justo FA^a, Calderaro D^a, Pastana AF^a, Rocha TRF^b, Yu PC^a, Gualandro DM^a, Damico EA^b, Caramelli B^a

^a Instituto do Coração (InCor), São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Cardiovascular events (CVE) represent the dreadful burden of peripheral vascular disease, and the main mechanism involved is atherothrombosis. Platelets play a key role in this process, and the mean platelet volume (MPV), which has been considered a new marker of cardiovascular risk and is related to platelet turnover, might also be a marker of risk in the perioperative scenario. This study observed platelet profile (total count, maximum extent aggregation, and MPV) throughout the perioperative period of elective vascular surgery patients. Platelet aggregation was evaluated by an impedance aggregometer after blood exposure to arachidonic acid (AA 0.5mM). Baseline and post-operative platelet parameters were assessed in a group of 157 patients under chronic aspirin therapy. Patients were followed up during hospitalization, and cardiovascular events were defined as the occurrence of acute coronary syndrome, ischemic cerebrovascular event, vascular reoperation, isolated troponin elevation, or cardiovascular death. A logistic regression model identified the independent predictors of CVE and the paired t-test was used for evaluation of parameters of the platelet profile. The means of the individual differences between post- and pre-operative platelet tests (delta) were compared between patients with and without CVE. Twenty-one

(13.4%) patients developed a CVE, and the maximum extent aggregation in response to arachidonic acid was the only baseline platelet parameter independently related to CVE. Patients in the upper quartile had a two-fold occurrence of CVE: OR 2.48; $p = 0.034$. There was a significant decrease in platelet count after surgery: $228.935/\text{mm}^3 \pm 75.57$ vs. $194.266/\text{mm}^3 \pm 72.95$ ($p = 0.0001$), with no difference between patients with and without CVE ($p = 0.57$). Platelet aggregation in response to AA significantly decreased: 5.34 ± 5.69 vs. 3.38 ± 5.30 ($p = 0.001$), mainly in patients who had a CV event (delta: -4.27 ± 6.02 vs. -1.37 ± 6.00 ; $p = 0.045$). Although baseline MPV was not associated to CVE (10.70 ± 0.99 vs. 11.79 ± 10.26 ; $p = 0.273$), postoperative MPV was significantly higher in CVE patients (15.70 ± 23 vs. 10.84 ± 0.96 ; $p = 0.05$) and delta MPV (5.08 ± 22.73 vs. 0.10 ± 0.42 ; $p = 0.043$), for patients with and without CVE, respectively. These results suggest that there is increased platelet consumption and a high platelet turnover in the perioperative period of vascular surgery that is greater in patients with CVE, reinforcing the putative effect of a pro-thrombotic status toward the occurrence of complications. Therefore, this specific profile could be useful for the identification of patients at an increased risk of CVE.

256. EVALUATION OF THE RS12777823 POLYMORPHISM IN THE CYP2C GENE CLUSTER ON WARFARIN DOSE IN BRAZILIAN PATIENTS

Marcatto LR^a, Wulkan F^a, Soares RAG^a, Strunz CMC^b, Krieger JE^a, Pereira AC^a, Santos PCJL^a

^a Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração (InCor), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Laboratório Clínico, Instituto do Coração (InCor), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Background: Warfarin is the most widely oral anticoagulant agent prescribed worldwide. This drug, a vitamin K-antagonist, is used to prevent stroke and thromboembolic events. Warfarin has a narrow therapeutic range and, consequently, patients usually have difficulties achieving the stable therapeutic dose. Various factors can influence the warfarin dose, including known genetic factors. A current study identified that the rs12777823 polymorphism in the CYP2C cluster had significant effect in the warfarin dose in African-Americans. **Aims:** This study aimed to evaluate the effect of the rs12777823 polymorphism in the warfarin dose. **Methods:** For this study, 1,002 patients taking warfarin for at least 12 months were recruited at the Instituto do Coração, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HC/FMUSP). The rs12777823 polymorphism G > A was analyzed by polymerase chain reaction followed by high resolution melting analysis (PCR-HRM). Patients were categorized into self-declared "racial/color" subgroups according to the criteria used by the Brazilian Census. **Results:** In the white group, a significant difference was observed in the warfarin dose according to the genotypes. White patients with AA genotype had higher dose compared with patients with GG genotype ($p = 0.01$). However, this association was not identified in the black group and other groups. Likely, a limitation is the small sample size in the black group. **Conclusion:** The present findings indicated that the rs12777823 polymorphism in the CYP2C cluster was associated with warfarin dose in white patients. However, further studies are needed to check the association of this variant with the warfarin dose and to assess whether this variant could improve dose prediction in these individuals. **Keywords:** Warfarin; CYP2C; pharmacogenetic; predicted dose.

257. ANÁLISE "IN VITRO", "IN SILICO", "IN VIVO" E "EX VIVO" DOS PERFIS BIOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS DE NOVOS DERIVADOS PIRAZOLO-PIRIDINA ANTIAGREGANTES PLAQUETÁRIOS

Saito MS^a, Lourenco AL^a, Dias LR^a, Rodrigues CR^b, Mendes LC^b, Castro HC^a, Satlher PC^b

^a Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

^b Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A hemostasia é definida como um processo fisiológico de manutenção do estado líquido e circulante do sangue, com indução de um tampão hemostático em caso de lesão vascular. A perda da integridade desse sistema pode gerar diversos quadros patológicos, tais como os

distúrbios trombóticos, que representam a causa mais frequente de morbidade e mortalidade mundialmente. Entre esses distúrbios destacamos: aterotrombose e tromboembolismo venoso. Nesse contexto, a agregação plaquetária é um dos principais eventos envolvidos no processo de formação do trombo vascular, mas os agentes antiagregantes plaquetários disponíveis no mercado têm severos efeitos indesejáveis à saúde do paciente. São necessários avanços para o desenvolvimento de novos medicamentos. Recentemente, nosso grupo caracterizou a ação antiplaquetária de uma nova série de derivados Pirazolo-Piridina, os quais foram capazes de inibir agregação plaquetária, em plasma de coelho rico em plaquetas, induzida por ácido araquidônico (3a-IC50 = 61 μM ; quase cinco vezes melhor que Aspirina-IC50 = 300 μM), mas diversos aspectos acerca do mecanismo de ação e toxicidade desses compostos ainda não foram delineados. **Objetivo:** Analisar o perfil antitrombótico e toxicológico *in silico*, *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo* de novos derivados Pirazolo-Piridina antiagregantes plaquetários (3a, 3b e 3h - 100 μM) e compará-los com o ácido acetilsalicílico (AAS). **Material e métodos:** Inicialmente, fizemos testes de coagulação e de agregação plaquetária *in vitro*. Para avaliar o perfil toxicológico *in vitro* desses derivados, fizemos o teste de hemólise. Além disso, fizemos um estudo da relação estrutura-atividade por meio da modelagem molecular e observamos possíveis interações do nosso derivado com uma enzima de relevância farmacológica (COX-1 ou Tromboxano Sintase) com o *docking* molecular. Em seguida, fizemos ensaios antitrombóticos *in vivo* com camundongos Balb/c, por meio da tromboembolia pulmonar induzida por trombina, seguida da análise histopatológica dos órgãos desses animais, e também ensaios de tempo de sangramento *in vivo* em papel de filtro e reagente de Drabkin. Esse é inédito e não descrito na literatura. Para o ensaio *ex vivo*, fizemos o tempo de recalcificação. **Resultados:** Observamos que os derivados não apresentaram influência significativa nas vias da coagulação sanguínea, o que indica uma ação direcionada à agregação plaquetária, em que os todos os derivados revelaram uma inibição significativa da agregação induzida por ácido araquidônico (IC50 = 29,6; 58,2 e 59, para os derivados 3a, 3b e 3h, respectivamente). Nos estudos de *docking* molecular, observamos que a inibição da via do ácido araquidônico está relacionada com a inibição da TXS, por causa da complementariedade estrutural observada. Nos ensaios antitrombóticos *in vivo*, o derivado 3a apresentou a maior proteção contra a formação de trombos quando comparado com o AAS. Nos ensaios de tempo de sangramento, observamos que todos os derivados apresentaram menor risco hemorrágico quando comparados com o AAS. Por fim, nos ensaios de tempo de recalcificação, observamos que o derivado 3a apresentou perfil semelhante ao AAS. **Conclusão:** Esses resultados apontam o derivado 3a como o protótipo medicamentoso mais promissor, que alia um baixo risco hemorrágico e alto grau protetor.

258. INFLUÊNCIA DO DABIGATRAN NO COAGULAGRAMA CONVENCIONAL

Mendes CEA, Aranda VF, Saldanha AFA, Guerra JCC, Colombini MP

Laboratório de Hematologia e Coagulação, Laboratório Clínico, Departamento de Medicina Diagnóstica e Preventiva, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Rotineiramente, os pacientes em uso de anticoagulantes orais e ou parenterais, como os dicumarínicos, a heparina não fracionada e a heparina de baixo peso molecular, são monitorados pelos testes convencionais TP, TTPA e atividade antifator X ativado, visando a minimizar um possível risco hemorrágico ou uma retrombose. Os novos anticoagulantes oferecem ação inibitória direta na trombina gerada ou no fator X ativado com a promessa da não necessidade de controle da terapêutica, exceto nas condições de falência renal, quadros hemorrágicos, antes de cirurgias e/ou procedimentos invasivos e nos casos de superdosagem. Clinicamente, alguns pacientes têm apresentado sangramentos graves. É obrigatória uma avaliação laboratorial para orientação terapêutica. O Dabigatran é um inibidor direto da trombina e apresenta alta afinidade por trombina e uma ligação reversível. Dabigatran etexilato é uma droga que é convertida em metabólito ativo com baixa disponibilidade e uma meia vida de 12 a 17 horas, com 80% de excreção via renal. **Objetivo:** Avaliar o impacto do uso do Dabigatran (Pradaxa[®]) nos testes convencionais da coagulação, no intuito de inferir um padrão de resposta que possa ser útil na ação de reversão da terapêutica desses casos. **Material e métodos:** Foram avaliados 11 pacientes em uso da droga (sem especificação da dose e tempo de uso). Coleta feita em tubos com citrato 3,2% (Sarsted[®]), centrifugados em 4.000 RPM por 15 minutos para obtenção do plasma pobre em plaquetas. Foram

dosados TP, TTPA, TT e fibrinogênio no equipamento STA-R Evolution com reagentes Stago®. **Resultados:** Houve 100% de prolongamento no TT, 82% com valores maiores do que 100 segundos (100-174); 91% de alteração no TTPA com relação que variou de 1,32 a 2,39 e 64% de aumento no INR com variação de 1,35 a 3,25. **Conclusão:** Apesar da limitação do não acesso à dosagem e ao tempo de uso do Dabigatran, o TT foi altamente sensível à presença da droga e parece ter um papel triador qualitativo, uma vez que níveis normais excluiriam seu uso (alto valor preditivo negativo) ou apontariam para baixos níveis da droga. O TTPA, apesar de alterado em sua maioria, apresentou 9% de resultados normais e demonstrou ter menor utilidade como teste preditor negativo, e o TP pareceu ser o teste menos sensível, com 36% de resultados normais.

259. AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES ABCB1 E CYP2C9 NA RESPOSTA TERAPÊUTICA À VARFARINA

Rebecchi IMM^a, Freitas TSM^a, Penha SLT^a, Luchessi AD^a, Maciel JFR^b, Fernandes MZ^a, Rocha CD^a, Januário GP^a, Hirata RDC^c, Medeiros TMD^a

^a Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil

^b Hemocentro Dalton Barbosa Cunha (HEMONORTE), Natal, RN, Brasil

^c Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O tromboembolismo venoso torna-se mais frequente frente ao envelhecimento e apresenta vários fatores de risco para seu desenvolvimento, como fatores genéticos e ambientais. Atualmente, a varfarina é o medicamento mais prescrito para a profilaxia primária e secundária de eventos tromboembólicos, principalmente por causa da acessibilidade do paciente ao medicamento pelo custo. No entanto, a resposta terapêutica à varfarina pode ser influenciada por outros medicamentos, alimentos ricos em vitamina K e comorbidades, e é monitorada por meio do resultado laboratorial do INR. A resposta terapêutica à varfarina vem sendo associada a polimorfismos genéticos que interferem na farmacocinética do medicamento. **Objetivo:** Avaliar a associação dos polimorfismos dos genes ABCB1 (G2677T/A rs2032582) e CYP2C9 (CYP2C9*2 rs1799583 e CYP2C9*3 rs1057910) à resposta terapêutica de 105 indivíduos em uso de varfarina. **Material e métodos:** O polimorfismo do gene ABCB1 foi analisado por meio de PCR-RFLP e os polimorfismos do gene CYP2C9 por meio de PCR em tempo real. **Resultados:** Não foram observadas diferenças entre a distribuição de genótipos e alelos para todos os polimorfismos estudados entre os grupos étnicos de brancos, pardos e negros ($p > 0,05$). Para o polimorfismo G2677T/A (rs2032582), as frequências alélicas e genotípicas do gene ABCB1 entre os pacientes foram semelhantes às observadas em brancos e negros. Para os polimorfismos CYP2C9*2 e CYP2C9*3, as frequências alélicas foram semelhantes às observadas em população branca. Por outro lado, as frequências alélicas das variantes polimórficas CYP2C9*2 (6%) e CYP2C9*3 (11%) para os pacientes que autodenominaram negros ou pardos foi diferente da descrita para populações africanas negras ou descendentes (<1%). Os polimorfismos CYP2C9*2 e CYP2C9*3 do gene CYP2C9 isoladamente não mostraram associação com a resposta terapêutica à varfarina, assim como o polimorfismo G2677T/A do gene ABCB1. Entretanto, quando foram analisados os genótipos associados dos polimorfismos da CYP2C9 entre os pacientes, observou-se que metabolizadores rápidos (CYP2C9*1) necessitam de doses diárias maiores de varfarina e, inversamente, metabolizadores lentos (CYP2C9*2/*3) precisam de menores doses do anticoagulante ($X^2 = 7,2358, p = 0,027$). **Conclusão:** Observamos que a determinação prévia dos genótipos dos polimorfismos da CYP2C9 entre os usuários de varfarina é um marcador útil para a definição da sua dose.

260. RELATIONSHIP BETWEEN THE PLASMA LEVELS OF VON WILLEBRAND FACTOR AND FACTOR VIII IN PATIENTS WITH ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

Nascimento NM^a, Soares RPS^b, Seguro LPC^c, Maeda NY^b, Lopes AA^d, Borba EF^c, Bydlowski SP^a

^a Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^c Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^d Instituto do Coração, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Background: von Willebrand factor (VWF) is a glycoprotein with a multimeric structure, whose molecular mass can exceed 20,000 kDa. It

plays hemostatic functions through the binding to FVIII, to platelets, and to several constituents of connective tissue. The VWF-cleaving protease, known as ADAMTS-13, is important for maintaining the normal size distribution of VWF multimers. In fact, VWF level also correlates with thrombosis risk and inversely with bleeding risk. Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune disease characterized by vascular thrombosis associated with the presence of antiphospholipid antibodies in the plasma of patients. The exact pathogenic mechanism underlying the prothrombotic tendency of APS has not been completely elucidated. **Objectives:** The present study was performed to evaluate the correlations of VWF and FVIII activities and antigen concentrations in subjects with primary APS and a healthy control group matched for age and gender. **Methods:** Thirty-nine patients were enrolled (median age 44 years) with primary APS (PAPS) who had been treated with warfarin for various periods of time. Patients were regularly followed at the outpatient clinic of the Rheumatology Division, Medical School, University of São Paulo, Brazil. The FVIII antigen, VWF antigen, and biological activity were measured with ELISA and FVIII activity using a chromogenic assay. **Results:** PAPS group showed higher levels of FVIII:Ag (107 ± 19 vs. 91 ± 15 IU/dL; $p = 0.0003$) and FVIII:C (117 ± 39 vs. $98 \pm 30\%$; $p = 0.0021$) compared to controls. No significant differences were observed in the FVIII:Ag to FVIII:C ratio between the groups. Only FVIII:Ag and FVIII:C correlated positively in PAPS ($r = 0.0017$; $p = 0.9917$) and the control group ($r = 0.3823$; $p = 0.0163$). The levels of VWF:Ag were significantly increased in PAPS compared to control group (74 ± 6 vs. 69 ± 11 U/dL, $p = 0.0163$), but no significant differences in VWF:CB to VWF:Ag ratio between PAPS and control were found. The VWF:Ag and VWF:CB correlated positively in both groups: PAPS ($r = 0.4543$; $p = 0.0037$) and the control group ($r = 0.6326$; $p < 0.0001$). **Conclusion:** In this study, FVIII antigen and activity were elevated in PAPS patients. However, the correlation of FVIII:Ag to FVIII:C was lost in these patients. FVIII circulates in the blood forming a complex with VWF. Free FVIII has much shorter half-life than the VWF-FVIII complex, suggesting that the half-life of plasma FVIII is mainly determined by the clearance of VWF. In this study, VWF:Ag was elevated in PAPS patients. However, no increased levels of VWF:CB was observed. Therefore, it is tempting to speculate that the loss of correlation is due to the increased plasma levels of VWF observed in PAPS patients. However, no increased levels of VWF:CB were observed. These findings could contribute to the thrombotic risk besides the presence of antiphospholipid antibody. Other studies are needed to better elucidate the reported findings of the VWF activity/antigen axis.

261. LOST CORRELATION BETWEEN VON WILLEBRAND FACTOR ANTIGEN AND ACTIVITY IN PATIENTS WITH ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

Soares RPS^a, Nascimento NM^b, Seguro LPC^c, Borba EF^c, Maeda NY^a, Lopes AA^d, Bydlowski SP^b

^a Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^b Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^c Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^d Instituto do Coração, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Background: von Willebrand factor (VWF) is an adhesive plasma glycoprotein that performs its hemostatic functions through the binding to FVIII, to platelets surface glycoproteins, and to several constituents of connective tissue. Circulating mature VWF is a multimeric protein with a molecular mass ranging from 450 kDa to more than 20,000 kDa. In fact, VWF level also correlates with thrombosis risk and inversely with bleeding risk within the apparently healthy population. Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune disease that manifests clinically and serologically with elevated level of antiphospholipid antibodies in the plasma of patients. The pathogenic mechanism underlying the prothrombotic tendency of APS has not been elucidated. Numerous procoagulant mechanisms have been tested including platelet activation, monocyte tissue factor expression, and endothelial cell activation. In this way, VWF could be useful as a marker for endothelial activation. **Aim:** The present study was performed to evaluate the correlations of VWF antigen (VWF:Ag) and collagen-binding activity (VWF:CB) in subjects with primary APS (PAPS), and analyze the influence of international normalized ratios (INRs) in this correlation. **Subjects and methods:**

The study was performed in 62 patients (16 males and 46 females) with PAPS who have been treated in the Outpatient Clinics of the Department of Rheumatology, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. The control group was matched for age and gender. The median age of patients was 42 years. The patients in this study had been treated with warfarin for various periods of time. They were classified according to the international normalized ratios (INRs) as: INR < 2, n = 15 and INR > 2, n = 47. The antigenic and biological activities of VWF were all measured by ELISA. **Results:** PAPS group showed higher levels of VWF:Ag (78 ± 8 vs. 69 ± 11 U/dL; p < 0.0001) compared to controls. No significant difference was found in VWF:CB plasma levels (75 ± 13 vs. 73 ± 14%). VWF:Ag and VWF:CB correlated significant and positively in the PAPS group (r = 0.3650; p = 0.002) and the control group (r = 0.6545; p < 0.009). No statistically significant difference could be demonstrated when comparing the VWF:Ag and VWF:CB in patients with INR < 2 and INR > 2. However, VWF:Ag and VWF:CB correlated significant and positively in INR > 2 (r = 0.4004; p = 0.0053) but not in INR < 2 (r = 0.3071; p = 0.2655). **Conclusion:** Understanding the thrombotic risk profile in patients with PAPS can assist in determining the optimal type and duration of antithrombotic therapy. In this study, a correlation of VWF:Ag and VWF:CB was observed in patients with PAPS. Unexpectedly in patients with INR < 2, this relationship was not observed. Although more studies are needed, these results suggest that INRs may influence the relationship between VWF:Ag and VWF:CB, and it is known that VWF is effective in thromboembolic events. These findings collaborate to recommend that oral anticoagulation to a target INR > 2.0 in patients with PAPS is shown to be beneficial in the prevention of thrombosis.

262. A INIBIÇÃO DA SORBITOL DESIDROGENASE AUMENTA A ADESÃO PLAQUETÁRIA EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM FIDARESTAT

Flores-Nascimento M, Zaponni KCS, Mendes-Silverio CB, Ferreira R, Siqueira LH, Fornari TA, Mazetto BM, Orsi FLA, Bizzachi JMA

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

Introdução: A trombose venosa profunda (TVP) é uma doença multifatorial associada a uma alta morbimortalidade por causa de complicações como embolia pulmonar e síndrome pós-trombótica. A identificação de fatores envolvidos com a doença é importante para melhor entender sua fisiopatologia. Na medida em que o papel das plaquetas na TVP ainda não foi completamente definido, fizemos anteriormente um estudo proteômico em plaquetas de três pacientes com TVP, comparamos às de um irmão e um vizinho de cada paciente e minimizamos as interferências genéticas e ambientais. Esses pacientes altamente selecionados apresentaram episódios espontâneos e recorrentes de TVP proximal e mencionaram uma história familiar de tromboembolismos. **Material e métodos:** Plaquetas foram lavadas e lisadas e as suas proteínas foram alquiladas, reduzidas, precipitadas com acetona e hidrolisadas com tripsina. Foram separados por HPLC 100 µg de peptídeos e oito frações foram obtidas e dirigidas ao espectrômetro de massas LTQ-Orbitrap. Nesta análise, a sorbitol desidrogenase (Sord) esteve presente apenas nos pacientes e ausente em irmãos e vizinhos. Para avaliar a expressão do gene da Sord, a qPCR foi feita em RNA de plaquetas dos mesmos indivíduos com a aplicação de *primers* específicos após verificarmos uma contaminação mínima de leucócitos com *primers* para CD45. A influência da Sord na adesão plaquetária foi avaliada com a administração do inibidor direto fidarestat a 12 camundongos C57BL6 por gavage a 10 mg/kg e a 12 animais tratados com uma solução de goma arábica a 5%. Para este teste, o sangue foi coletado em veias cavas em citrato de sódio a 3,8% e centrifugado a 100G por 10'. As plaquetas foram recolhidas e lavadas em tampão de Krebs. Plaquetas a 1,2 x 10⁶/mL foram adicionadas a placas de 96 poços pré-cobertas com fibrinogênio a 50 µg/mL com e sem estimulação com 50 mU de trombina após a incubação a 37° C por 30'. A porcentagem de células aderentes foi calculada comparando a atividade da fosfatase ácida à de uma curva padrão de um número conhecido de plaquetas (0-100%) a 405 nm. Na qPCR, as análises foram feitas com *fold-change* e consideramos significativos os resultados inferiores a 0,5x e superiores a 1,5x. O teste de Mann-Whitney foi aplicado e p < 0,05 foi considerado significativo. **Resultados:** A expressão gênica de Sord esteve aumentada em pacientes (1x) em comparação com irmãos (0,51x), mas foi semelhante aos dois vizinhos (0,77x). A adesão de plaquetas não estimuladas foi semelhante entre os dois grupos de animais (Med. trat. = 41,6%; med. cont. = 45%; p = 0,69), mas as plaquetas de animais tratados apresentaram maior adesão após a estimulação com a trombina (med. trat. = 74,4%) quando comparados aos

controles (med. = 43,9%; p = 0,015). **Conclusões:** Na proteômica, a Sord esteve presente apenas em pacientes com TVP e ausente nos irmãos saudáveis e vizinhos. Uma maior expressão do gene da Sord em pacientes em comparação com todos os grupos controles pode sugerir o envolvimento dessa proteína na fisiologia da TVP. A inibição dessa proteína com o fidarestat promoveu um aumento na adesão de plaquetas apenas após estimulação com trombina. A Sord poderia ser uma proteína protetora com base no aumento da expressão do gene, dos níveis da proteína e das propriedades adesivas após estímulos trombotogênicos, que poderiam ser uma tentativa de diminuir a função plaquetária e minimizar o dano.

263. MYOSIN LIGHT POLYPEPTIDE 6 IS REDUCED IN DEEP VEIN THROMBOSIS PATIENTS

Flores-Nascimento M, Ferreira R, Lanaro C, Bizzachi JMA

Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Background: Deep vein thrombosis (DVT) is multi-causal disease associated to a high morbi-mortality due to complications such as pulmonary embolism and post-phlebotic syndrome. The incidence is about 20% to 30%, and 25% of the patients will present recurrence in five years. The identification of factors involved in the disease is important to better understand its pathophysiology. As the role of platelets in DVT is still not completely defined, the authors previously performed a proteomic study on platelets from three DVT patients and compared it to results obtained from one sibling and one neighbor for each patient in order to minimize the genetic and environmental interferences. These highly selected patients presented spontaneous and recurrent episodes of proximal DVT and mentioned a familiar history of thrombosis. **Methods:** Platelets were washed, lysed, and their proteins were alkylated, reduced, precipitated with acetone, and hydrolyzed by trypsin. One hundred mg of peptides were then separated by hydrophobicity using HPLC, and eight fractions were obtained and directed to the LTQ-Orbitrap mass spectrometer. The protein search was performed by Sorcerer-SEQUENT. In order to confirm the result, qPCR was performed applying cDNA obtained from platelet RNA of the same individuals enrolled in the proteomic study. The reverse transcription was performed applying RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit. The leukocyte contamination was evaluated by microscope analysis, cell count, and qPCR applying primers directed to CD45 on a StepOne RT-PCR, and was considered insignificant. Subsequently, primers directed to MYL6 and to the endogenous gene β -actin were also evaluated. **Results:** In the proteomic analysis, the myosin light peptide 6 (MYL6) was reduced in DVT patients (mean patients = 1.21) when compared to siblings (mean siblings = 1.51; p = 0.03) and neighbors (mean neighbors = 1.53; p = 0.023). This study verified similar results in the qPCR after the $\Delta\Delta CT$ analysis, and patients presented lower levels compared to siblings (1.06-fold higher) and neighbors (1.65-fold higher). **Conclusions:** MYL6 may be involved in the physiopathology of deep vein thrombosis patients, considering that myosin promotes shape changes of platelets, the disappearance of the microtubule marginal band, and the secretion of the dense bodies and alpha granules.

264. PORTAL VEIN THROMBOSIS ASSOCIATED WITH PROTEIN C DEFICIENCY AND ELEVATED FACTOR VIII IN HEPATOSPLENIC SCHISTOSOMIASIS - CASE REPORT

Santos JDRD^a, Ferreira RCDS^b, Hatzlhofer BLD^c, Martins JM^d, Correia MCB^e, Owen JS^f, Lima VLM^a, Lopes EPA^g, Domingues ALC^h, Leite LAC^h

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

^b Departamento de Medicina Tropical, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^c Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^d Unidade de Laboratório (ULAB), Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^e Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOPE), Recife, PE, Brazil

^f Division of Medicine, UCL Medical School, Royal Free Campus, London, United Kingdom

^g Departamento de Medicina Clínica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^h Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

Portal vein thrombosis is considered a vaso-occlusive process that can appear during the course of hepatosplenic schistosomiasis mansoni,

but may result from impaired portal blood flow or be associated with acquired or inherited thrombophilic factors. The authors report the case of a 67-year-old woman who developed thrombocytopenia as a result of hypersplenism. After the diagnosis of hepatosplenic schistosomiasis, portal vein thrombosis was detected by ultrasound examination. Hematological tests also revealed low levels of protein C (43.3%) and high levels of factor VIII (183.1%). The pathogenesis of portal vein thrombosis remains unclear in some patients with schistosomiasis mansoni. Therefore, it is recommended that early clinical and hemostatic investigations should be performed to evaluate the risk of portal vein thrombosis and hence avoid further complications. **Keywords:** Portal vein thrombosis; *Schistosoma mansoni*; protein C; portal hypertension.

265. LOWER ECHOGENICITY OF THE RESIDUAL VENOUS THROMBOSIS AT ULTRASOUND EXAMINATION IS ASSOCIATED WITH RECURRENT THROMBOSIS EVENTS

Mazetto BM, Orsi FLA, Silveira SA, Zaponni KCS, Colella MP, Paula EV, Bizzachi JMA

Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Introduction: After the first thrombotic event, up to 30% of deep venous thrombosis (DVT) cases may recur within ten years. Unprovoked first DVT episode, male gender, and persistently elevated D-dimer are important risk factors for DVT recurrence. The role of residual venous thrombosis (RVT) as a risk factor for recurrence is controversial. The lack of a standardized methodology for RVT evaluation by conventional ultrasonography (US) may explain, in part, why the results are divergent among different studies. Several clinical studies in arterial thrombosis have evaluated the echogenicity of atherosclerotic plaques by grayscale median (GSM) computer-assisted ultrasound (US) analysis, and carotid plaques showing lower US-generated GSM values (< 25) were identified as high-risk lesions, since they are more prone to embolization. In this context, it was hypothesized that the assessment of RVT echogenicities by US-generated GSM could be a new tool for the evaluation of the individual recurrence risk for DVT. Thus, this study evaluated whether the US-generated GSM values for RVT may predict the recurrence of thrombotic events. This was a prospective study that included 52 patients with at least one episode of DVT in the lower limbs, attended to at the Hemocentro de Campinas. At the time of enrollment for the study, patients were submitted to a duplex examination and blood samples collection. Medical evaluation was performed and a new US image was achieved when DVT recurrence was suspected or by the end of the follow-up (two years after the enrollment for the study). **US-generated GSM:** The region containing only the residual thrombus was depicted point-by-point to trace a surrounding line. GSM was then calculated by specific software. From 52 consecutive patients with previous DVT, 30 patients presented RVT. During the follow-up, ten patients had a new venous thrombosis event. Among patients with RVT, those with lower GSM values presented more recurrent events; GSM < 24 was the optimal cut-off value to determine the risk of thrombosis recurrence (specificity of 95%; 95% CI = 75.13 to 99.87%). The relative risk for recurrence was 2.8-fold (95% CI = 1.2 to 6.5; $p = 0.09$) greater in patients with GSM < 24, compared to patients with GSM > 24. The risk for recurrence was five-fold greater in patients with GSM < 24 (RR = 5.1, 95% CI = 2.115 to 12.50; $p = 0.0194$) when compared to patients with GSM > 24 grouped with patients without RVT. All patients were further dichotomized according to the presence of RVT and GSM values; the first group was composed of individuals with thrombus GSM < 24, and the second by either patients with thrombus GSM > 24 and patients without RVT. Serum levels of TNF- α and IL-8 were significantly higher in patients with GSM < 24 (6.8 vs. 2.2 pg/mL, $p = 0.03$ and 59.1 vs. 19.0 pg/mL, $p = 0.001$; respectively). Levels of PCR (0.37 mg/dL), IL-6 (3.13 pg/mL), and D-dimer (0.66 mg/L) were increased in patients with GSM < 24 compared to the other group (0.19 pg/mL, 1.19 pg/mL, and 0.46 mg/L; respectively); the differences were not statistically significant. These findings suggest that RVT may be a risk factor for recurrence; in particular, the recurrence risk seems to be higher among patients with very hypoechoic residual thrombus, GSM < 24. Therefore, the GSM value of residual thrombus is rising as a promising marker for assessment of individual risk for thrombosis recurrence.

266. SEVERE POST THROMBOTIC SYNDROME IS ASSOCIATED TO LOWER ECHOGENICITY OF THE RESIDUAL VENOUS THROMBOSIS

Mazetto BM, Orsi FA, Silveira SA, Flores-Nascimento MC, Bittar LF, Custódio I, Colella MP, Paula EV, Bizzachi JMA

Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Post-thrombotic syndrome (PTS) is a common chronic complication of deep venous thrombosis (DVT) of the lower limbs and may occur even after an appropriate anticoagulant treatment. PTS may develop in the first two years after DVT in about 20-50% of patients; 5-10% of those may present severe manifestations of the disease. PTS is associated to an increased risk for DVT recurrence, morbidity, and poor quality of life. PTS-associated medical conditions are poorly understood, and it seems that hypercoagulability and inflammation, after the first episode of DVT, may play an important role in disease development. Therefore, a comprehensive analysis of clinical parameters, inflammation, and ultrasound (US) examination of the affected limb in patients with history of previous DVT was performed. The aim of this study was to evaluate possible medical conditions associated to PTS and its severity. Between February 2013 and October 2013, consecutive patients with history of previous unprovoked DVT of lower limbs, attended at the Hemocentro de Campinas, were included. Patients were submitted to physical evaluation for body mass index (BMI) determination and PTS diagnosis by Villalta scale. US examination was performed by duplex. In patients with residual venous thrombosis (RVT), the thrombus echogenicity was determined by grayscale median (GSM) evaluation, as described for atherosclerotic plaques. The GSM analysis was performed by computerized US using specific software. Only the region containing the thrombus was analyzed; the image was depicted manually point-by-point to trace the line surrounding the thrombus and the final GSM values were automatically calculated and translated into the thrombus echogenicity. A low GSM value (< 25) suggests acute thrombosis and a high GSM value (> 25) suggest subacute thrombosis. From the 56 patients included, 15 did not present PTS, 23 were classified as mild, 11 as moderate, and seven as severe PTS. Serum levels of CRP was significantly higher in patients with severe PTS when compared to patients with mild/moderate PTS and to those without PTS (0.64 mg/dL, 0.31 mg/dL, and 0.13 mg/dL, respectively; $p = 0.02$). Serum levels of IL-6 and TNF- α were higher in patients with severe PTS compared to patients with mild/moderate PTS and without PTS (IL-6 = 2.81 pg/mL vs. 1.48 pg/mL vs. 0.80 pg/mL, and TNF 1.68 pg/mL vs. 1.33 pg/mL vs. 1.17 pg/mL); however, the differences did not reach statistical significance. The presence of RVT was similar between groups; however, US-generated GSM was significantly lower in patients with severe PTS compared to patients with mild/moderate PTS and patients without PTS (GSM = 22, 31, and 28.5, respectively; $p = 0.04$). The BMI was also higher in patients with severe PTS when compared to mild/moderate PTS and the no PTS group (BMI = 34.8 vs. 29.3 vs. 25.9, respectively; $p = 0.007$). These results suggest that severe PTS may be associated with a chronic inflammatory response, characterized by obesity and higher levels of CRP. Besides, it could also be observed that severe PTS may be associated with the persistence of a hypoechoic residual thrombus, determined by lower GSM values. The finding about the persistence of a hypoechoic thrombus in patients with severe PTS, even a long time after the acute thrombosis event, is new, and may possibly suggest that an adequate thrombus organization process is required to avoid the development of PTS.

267. FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR ESTÃO ASSOCIADOS À RECIDIVA DE EVENTOS TROMBÓTICOS NA SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDE

Saraiva S^a, Custódio I^b, Colella MP^{a,b}, Paula EV^a, Appenzeller S^a, Annichino-Bizzachi J^{a,b}, Orsi FA^{a,b}

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

^b Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A síndrome antifosfolípide (SAF) é uma doença pró-trombótica cuja taxa de recidiva é variável e chega a mais de 12% ao ano. Estudos sugerem que pacientes com alto risco de recidiva seriam os com trombooses recorrentes, histórico concomitante de trombooses arterial e venosa,

ou morbidade obstétrica e trombose, tripla positividade dos anticorpos e associação com lúpus eritematoso sistêmico (LES). Entretanto, os fatores associados ao risco de recidiva da trombose na SAF não estão totalmente elucidados. Particularmente, a importância de aspectos demográficos e da presença de comorbidades clínicas, que contribuiriam com risco trombótico, podem ser mais bem avaliados. **Objetivo:** Avaliar fatores associados à recidiva de eventos trombóticos da SAF. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo de uma coorte de pacientes com SAF e histórico de trombose, em que foram avaliados aspectos demográficos e clínicos associados aos casos recorrentes. Levantamento de dados foi feito por meio da aplicação de questionário aos pacientes e do prontuário. Os dados foram analisados pelos testes exato de Fisher e Mann-Whitney. **Resultados:** Cem pacientes foram incluídos no estudo. Em 70% dos casos a trombose havia sido venosa e em 30% arterial. O histórico de recidiva era positivo em 40% dos pacientes, a média era de 2,5 (2-4) episódios trombóticos por paciente. O último episódio havia ocorrido em média 103 meses (3-639 meses) após o primeiro. Em 23% dos casos de recidiva, o paciente estava em uso de anticoagulante oral. Entre pacientes com e sem histórico de recidivas, respectivamente, foram semelhantes o gênero (72,5 vs 73,3% do sexo feminino), idade da primeira trombose (mediana = 25 vs 27,5 anos), índice de massa corpórea (mediana = 26,6 vs 24,6 kg/m²) e fumo (25 vs 20% dos pacientes). Hemograma, valores de colesterol, triglicérides e glicemia também foram semelhantes entre os grupos. A característica do primeiro evento trombótico, espontâneo ou provocado, também não esteve associada à recidiva (OR = 0,45 95%IC = 0,18-1,14, p = 0,11). Fatores específicos da SAF, que são sugeridos como de alto risco, como a positividade dos três anticorpos, associação de morbidade obstétrica e trombose, e o diagnóstico de LES também não estiveram associados à recidiva da trombose na coorte estudada. A presença de fatores de risco cardiovascular, como hipertensão, *diabetes mellitus* e dislipidemia, porém esteve associada à recorrência da trombose na SAF (OR = 3,06, 95%IC = 1,30-7,18, p = 0,01). Valores plasmáticos de creatinina estavam aumentados nos pacientes com recidiva em relação aos sem recidiva (0,74 vs 0,88 mg/dL; p = 0,03). **Conclusão:** A recidiva de eventos trombóticos da SAF está associada a comorbidades que conferem maior risco cardiovascular. Essa observação poderia justificar, em parte, a taxa relativamente alta de pacientes em anticoagulação oral que recidivam da doença. Fatores comumente associados à recidiva do tromboembolismo venoso, como trombose espontânea, sexo masculino e idade jovem, não estiveram associados à recidiva na SAF. Tendo em vista a morbidade dos casos recorrentes, os presentes resultados podem apoiar o controle rigoroso dos níveis pressóricos, glicêmicos e lipídicos como complementação do tratamento anticoagulante. Mais estudos são necessários para determinar a melhor associação terapêutica, a fim de minimizar o potencial trombótico da SAF.

268. CARACTERIZAÇÃO DOS CASOS DE SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDE ATENDIDOS EM AMBULATÓRIO DE REFERÊNCIA

Custódio I^a, Saraiva S^b, Colella MP^{a,c}, Paula EV^{b,c}, Appenzeller S^{b,c}, Bizzachi JMA^{a,b,c}, Orsi FLA^{a,b,c}

^a Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

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

Introdução: Síndrome antifosfolípide (SAF) é uma doença trombótica que acomete diferentes leitos vasculares e confere risco de recidiva. Apesar da clínica pró-trombótica agressiva, ainda são escassos os dados de literatura sobre a frequência das manifestações trombóticas da SAF e possíveis fatores a elas associados. Dessa forma, a caracterização dos pacientes com SAF poderia permitir um maior entendimento da apresentação da doença e contribuir para adoção de abordagens terapêuticas diferenciadas. **Objetivos:** Caracterizar a SAF no nosso meio, destacar os aspectos demográficos e clínicos e comparar a ocorrência de trombose venosa e arterial. **Material e métodos:** Estudo descritivo que incluiu todos os pacientes com o diagnóstico de SAF e antecedente de trombose atendidos no Hemocentro de Campinas entre janeiro e julho de 2014. Os dados desses pacientes foram coletados retrospectivamente, no prontuário médico. As diferenças entre os casos de SAF foram calculadas pelo teste exato de Fisher ou pelo teste de Mann-Whitney. **Resultados:** Cento pacientes foram incluídos. SAF foi definida como primária em 63%. A maioria era do sexo feminino (74%) e a mediana de idade no primeiro

evento trombótico foi de 27 anos (seis-61). Trinta e três pacientes (33%) apresentavam algum fator de risco cardiovascular, como hipertensão (HAS), *diabetes mellitus* (DM) ou dislipidemia (DLP), e 23% eram obesos. Os eventos venosos representaram 70% das tromboses. O sítio mais atingido foi o membro inferior. Entre os arteriais (30% dos eventos), predominou o acidente vascular isquêmico (AVCI), 96%. Além da trombose, 57% das pacientes tinham também histórico de complicações gestacionais associadas à SAF. Quarenta pacientes (40%) tinham histórico de eventos trombóticos recorrentes, em média 103 meses (3-639) após o diagnóstico. Em 23% dos casos de recidiva, o paciente estava em uso de anticoagulante oral. A recidiva ocorreu em 50% das tromboses arteriais e 35% das venosas. Entre pacientes com histórico de trombose arterial e venosa, respectivamente, foram semelhantes o gênero (76,6 vs 72,8% do sexo feminino), idade (mediana = 32 vs 26 anos), índice de massa corpórea (mediana = 24,6 vs 26,5 kg/m²), presença de HAS, DM ou DLP (43 vs 28%) e diagnóstico de lúpus (33,3% vs 38,5%). Contagens hematimétricas, valores de colesterol, triglicérides e glicemia também foram semelhantes entre os grupos. O grupo de trombose arterial tinha maior frequência de histórico de fumo (50 vs 30%, p = 0,04) e maior frequência de mulheres com histórico de complicações gestacionais (91,6 vs 42,8%, respectivamente, p = 0,005). Os níveis de proteína C reativa foram maiores nos indivíduos com trombose arterial em relação à venosa (0,45 vs 0,19 pg/mL, p = 0,04, respectivamente). **Conclusão:** Nossos resultados sugerem que SAF é predominantemente uma doença idiopática que acomete mulheres jovens. Recidivas podem ser tardias e ocorrer apesar da anticoagulação oral. Pacientes com trombose arterial apresentaram perfil pró-inflamatório mais exacerbado, maior frequência de complicações gestacionais e uma tendência maior à recidiva, o que pode sugerir que os eventos arteriais representem maior gravidade. Tendo em vista o impacto na morbidade da SAF, o conhecimento das distintas manifestações endossa ações de aspectos preventivos precoces, que podem minimizar complicações da doença.

269. VIABILIDADE DO EMPREGO DO AUTOCONTROLE DA ANTICOAGULAÇÃO ORAL EM PACIENTES ATENDIDOS PELO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE

Santos M^a, Orsi FLA^{a,b}, Saraiva S^c, Colella MP^{a,b}, Bizzachi JMA^{a,b,c}

^a Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

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

^c Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Os coagulômetros portáteis de uso domiciliar podem facilitar o tratamento de anticoagulação oral porque proporcionam ao paciente a possibilidade de fazer controles frequentes do RNI sem a necessidade de se deslocarem até um laboratório. Porém, a viabilidade de implantar esse sistema ainda não foi avaliada no Brasil. **Objetivo:** Avaliar a viabilidade do uso do coagulômetros portáteis CoaguChek XS (Roche Diagnostics) em pacientes atendidos em clínica de anticoagulação do SUS. **Material e métodos:** Foram selecionados para o estudo pacientes em anticoagulação oral havia pelo menos seis meses, com a dose estável de varfarina (ou tempo dentro do alvo terapêutico/TTR > 65%) e capacidade cognitiva. Durante seis visitas, duas vezes por semana, o paciente era treinado para o manejo do coagulômetro portátil e para a interpretação do resultado gerado. Após as seis semanas, o equipamento era liberado para uso domiciliar; o paciente deveria aferir o RNI semanalmente e entrar em contato com a equipe do ambulatório de anticoagulação para receber orientações sobre a dose. Após três meses, se o paciente estivesse motivado, era ensinado a ajustar a dose da varfarina conforme orientações contidas em tabela específica. Caso não houvesse adesão ao tratamento ou ocorresse descontrolo da dose do Marevan, o paciente poderia sair do estudo. Foram feitos contatos telefônicos semanais e consultas médicas trimestrais. A cada consulta o paciente respondia a um questionário de qualidade de vida específico para a anticoagulação (DASS). O tempo de seguimento foi de um ano e os desfechos avaliados foram a manutenção do bom controle da anticoagulação oral e da qualidade de vida. A comparação da evolução individual do controle da anticoagulação e da qualidade de vida foi feita por meio de teste paramétrico. **Resultados:** Foram incluídos no estudo 25 pacientes, todos com diagnóstico de tromboses de repetição. Seis (24%) saíram do estudo durante o seguimento, quatro por má adesão, um por interrupção no tratamento, um por gestação, um por dificuldade no controle da dose da varfarina e um por óbito (acidente de carro). Os dados desses pacientes foram inclu-

idos na análise. Permaneceram no estudo 19 pacientes e 18 (72%) puderam chegar à fase de autoajuste da dose da varfarina, sem comprometimento da segurança do tratamento anticoagulante. A média de seguimento foi de 10 meses (1-12 meses). O TTR dos pacientes permaneceu estável durante o período, sem variações significativas; apenas uma paciente teve de ser retirada do estudo por apresentar grande labilidade do RNI. O escore de qualidade de vida não sofreu variações individuais negativas durante o curso do tratamento. **Conclusão:** O estudo pôde demonstrar que o autocontrole da anticoagulação pode ser uma modalidade terapêutica viável para pacientes atendidos no SUS. Embora uma parcela da população (24%) não tenha conseguido finalizar o estudo, a maioria dos pacientes concluiu o tratamento com segurança e manutenção da qualidade de vida. O autocontrole da anticoagulação pode ser um tratamento seguro a ser oferecido a pacientes motivados. No SUS, o tratamento de autocontrole poderia ainda auxiliar no fluxo de atendimento de pacientes anticoagulados, uma vez que diminui a frequência de visitas médicas para o controle da anticoagulação.

270. TROMBOSE VENOSA PROFUNDA: PERFIL HEMOSTÁTICO IMEDIATAMENTE APÓS O EVENTO E AOS TRÊS MESES SOB ANTICOAGULANTE ORAL

Duarte RCF^a, Silva MVF^a, Moreira PSS^a, Ferreira MR^b, Vieira LM^a, Godoi LC^a, Fernandes AP^a, Cicarini WB^a, Dusse LMS^a, Carvalho MDG^a

^a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Hospital Israel Pinheiro, Instituto de Previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais (IPSEMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^c Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG, Brasil

Introdução: A manifestação clínica mais comum consequente à presença de fatores genéticos ou adquiridos que predisõem a um estado de hipercoagulabilidade é a trombose venosa profunda (TVP). Episódios trombóticos são tratados com varfarina, um anticoagulante oral (AO), e monitorados pela razão normalizada internacional (RNI). No entanto, a dose mínima necessária para a proteção antitrombótica e o momento correto de interromper o tratamento ainda não estão bem estabelecidos, especialmente em caso de trombozes espontâneas. Mutações que favorecem um **status** pró-coagulante e acarretam um risco aumentado de TVP são bem documentadas na literatura e continuam despertando um grande interesse científico. Nesse contexto, torna-se importante no manejo clínico de pacientes sob terapia com AO a pesquisa de mutações de interesse em trombofilia, bem como o uso de biomarcadores plasmáticos de hipercoagulabilidade, que permitem, dessa forma, traçar o perfil hemostático dos pacientes em uso de AO. O estabelecimento desse perfil poderá contribuir para a tomada de decisão no que se refere à continuidade ou interrupção desse medicamento. **Objetivos:** Avaliar o perfil hemostático de pacientes com TVP imediatamente após o episódio trombótico e aos três meses de terapia com anticoagulante oral, por meio de biomarcadores, comparar os resultados nos dois momentos e correlacioná-los à presença ou ausência de mutações que cursam com hipercoagulabilidade.

Material e métodos: Amostras de sangue foram coletadas de pacientes com TVP (n = 29), imediatamente após o evento trombótico e aos três meses sob terapia com AO. Como controles, foram obtidas amostras de indivíduos saudáveis (n = 19), da mesma faixa etária. Os fatores genéticos investigados incluíram fator V Leiden (G 1691A), protrombina (G20210A) e enzima MTHFR (C677T). Para avaliação do perfil hemostático foram determinadas as concentrações plasmáticas de fragmento 1+2 da protrombina (F1+2), complexo trombina-antitrombina (TAT), dímero D (D-Di) e inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1). **Resultados:** Mutações de interesse em trombofilia foram identificadas em oito indivíduos entre os 19 do grupo controle (42,1%), enquanto entre os 29 do grupo de TVP foram identificados 12 (41,3%) com mutações. Os níveis plasmáticos de F1+2, TAT, D-Di e PAI-1 foram significativamente elevados em pacientes com TVP antes e aos três meses sob AO comparados com os controles normais (p < 0,05 para todos os parâmetros analisados). O acompanhamento desses pacientes ao longo de 18 meses permitiu a observação de um segundo episódio trombótico em dois pacientes que apresentavam níveis plasmáticos de D-Di elevados aos três meses, apesar do uso ininterrupto do AO. **Conclusão:** O monitoramento de tais biomarcadores plasmáticos durante a terapia AO, particularmente o D-Di, pode ser importante para a tomada de decisão na prática clínica. **Agradecimentos:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (Capes) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

271. SÍNDROME HEMOLÍTICA URÊMICA ATÍPICA PÓS-PARTO – RELATO DE UM CASO DE REVERSÃO COMPLETA COM USO DE ECULIZUMAB

Lima GGM^a, Lima ARM^b, Sousa GB^a, Batista DA^c, Rodrigues RG^c, Severo AJ^a, Sales VCW^a, Dourado ACG^a, Reis BAA^a, Botelho LFB^a

^a Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil

^b Instituto Cândida Vargas, Prefeitura Municipal de João Pessoa, João Pessoa, PB, Brasil

^c Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: A síndrome hemolítica urêmica atípica (SHUa) é uma doença hematológica rara, potencialmente fatal, que cursa com uma microangiopatia trombótica (MAT) mediada pelo complemento. Nessa patologia, uma deficiência genética nos inibidores naturais do complemento gera ativação crônica não controlada desse e provoca danos sistêmicos contínuos e progressivos, por meio de fenômenos de hemólise, anafilaxia, inflamação e trombose. A SHUa pode ser esporádica ou familiar e ocorrer em qualquer idade. No entanto, metade dos pacientes é adulta. Seu prognóstico é reservado, e apresenta alta morbimortalidade na fase aguda da doença, sobretudo pelo grave comprometimento renal associado. Em paralelo ao melhor conhecimento da fisiopatologia da SHUa, desenvolveu-se o Eculizumab, droga que age como inibidor da via final do complemento e bloqueia com sucesso a causa base da patologia e as suas consequências devastadoras. **Objetivo:** Relatar caso de paciente com SHUa pós-parto que apresentou resposta e remissão completa com o uso contínuo do Eculizumab. **Relato de caso:** R.G.S., 23 anos, feminino, puérpera, previamente hígida, deu entrada em pronto-socorro (PS) com queda do estado geral e queixas de náuseas, vômitos, tonturas e anúria havia 24 horas. Paciente consciente, orientada, dispnéica (2+/4+), acianótica, icterícia (3+/4+), apresentava petéquias em membros inferiores, cefaleia, hipertensão e edema de membros inferiores (3+/4+). Sem evidências de comprometimento neurológico. Relatava alta de maternidade havia dois dias. Estava no quarto dia pós-operatório de cesariana. Referiu doença hipertensiva específica da gravidez. Usou Metildopa durante a gestação. Foi submetida a cesariana em vigência da 36ª semana de gestação, evoluiu sem intercorrências, com alta hospitalar 48 horas depois. Exames admissionais no PS, em 22/08/2013, mostravam: Hb: 3,4 g/dL; leucócitos: 6.900/mm³; plaquetas: 18.000/mm³; Ur: 286 mg/dL; Cr: 5,6 mg/dL; bilirrubina total: 8 mg/dL (BI: 7,6 mg/dL); transaminases, coagulograma e fibrinogênio normais; Coombs direto negativo; DHL: 7.900 UI/dL. À hematoscopia havia 7-9 esquizócitos por campo no sangue periférico. Mielograma normal. Sob a hipótese diagnóstica de MAT e na indisponibilidade de dosagem da ADAMTS 13, em 26/08/2013 iniciou infusão diária de 900 mL de plasma fresco associado a prednisona 1 mg/kg, visto o serviço não dispor de plasmáfereze, bem como sessões diárias de hemodiálise. Não havendo resposta clínica ou laboratorial satisfatória, a equipe assistente aventou a hipótese diagnóstica de SHUa. Foi então iniciado Eculizumab na dose de 900 mg semanalmente durante quatro semanas, seguido de 1.200 mg quinzenal continuamente. Gradativamente, a função renal foi restabelecida e o regime dialítico foi reduzido até sua total suspensão. Os índices hematimétricos foram normalizados e a paciente seguiu para alta hospitalar. Manteve infusão quinzenal do Eculizumab. Últimos exames de 24/04/2014: Hb: 12,3 g/dL; leucócitos: 4.700/mm³; plaquetas: 303.000/mm³; Ur: 30 mg/dL; Cr: 0,8 mg/dL. **Conclusão:** Diante de um quadro de SHUa, necessita-se de tratamento direcionado para a fisiopatologia dessa doença. Esse caso comprova a importância de seu diagnóstico e tratamento precoces, com Eculizumab como recurso terapêutico disponível e com excelente resposta clínico-laboratorial, e manutenção da remissão em longo prazo com tratamento contínuo.

272. FREQUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS FATOR V DE LEIDEN E PROTROMBINA G20210A EM PACIENTES COM SUSPEITA DE TROMBOFILIA

Souza JJ^a, Suzuki RB^b, Junior AF^b, Ruiz M^c, Junior WB^c

^a Faculdade de Medicina de Marília, Marília, SP, Brasil

^b Hemocentro de Marília, Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA), Marília, SP, Brasil

^c Diagnósticos do Brasil (DB), São José dos Pinhais, PR, Brasil

Introdução: O polimorfismo 1601A (Fator V Leiden/rs6025) apresenta frequência alélica de 1% na população mundial e de 2% na Holanda, onde foi identificado. Estima-se em 19,5% a prevalência do FV Leiden

em pacientes com trombose venosa profunda. Apesar de, na população mundial, a frequência alélica da protrombina G20210A (rs1799963) ser menor do que 1%, ela varia entre 3% e 4% nas populações de Porto Rico e Itália. Estudos dos efeitos da protrombina G20210A demonstram que a sua presença combinada com FV Leiden aumenta 20 vezes o risco de trombose e, isoladamente, a protrombina G20210A aumenta três vezes esse risco. O teste do FV Leiden está indicado em casos de primeiro tromboembolismo venoso antes dos 50 anos, em sítios incomuns (veias hepática, mesentérica e cerebral), episódios recorrentes, forte história familiar, durante a gravidez e antes de terapia hormonal. Contudo, questiona-se a real utilidade desses testes, uma vez que são de alto custo e ter a mutação implica efeitos psicológico e social negativos. Apesar das controvérsias a respeito dos exames para detecção desses polimorfismos, percebeu-se um aumento das solicitações médicas ao Hemocentro da Faculdade de Medicina de Marília, e pouco se sabe sobre a frequência dessas mutações na população brasileira. **Objetivo:** Identificar a frequência do FV Leiden e da protrombina G20210A em pacientes de diversas especialidades médicas com suspeita de trombofilia. **Material e métodos:** Foi feito um estudo analítico descritivo dos prontuários de pacientes com suspeita de trombofilia e comparado com resultados dos exames moleculares para identificação do FV Leiden e da protrombina G20210A. Foram feitas duas metodologias de análise molecular em amostras de DNA de 471 pacientes e 100 voluntários saudáveis. Esses últimos ainda estão em análise. **Resultados:** Entre as amostras dos 471 pacientes, 16 (3,4%) apresentaram o polimorfismo FV Leiden, 15 heterozigotos e um homozigoto, com 1,8% de frequência alélica. Houve a presença da protrombina G20210A em 12 amostras (2,5%), todas em heterozigose, com frequência alélica de 1,3%. Não houve concomitância de polimorfismos num mesmo paciente e o caso homozigoto para FV Leiden apresentou tromboembolismo venoso. A maior prevalência do FV Leiden (5,2%) foi observada entre os pacientes da cirurgia vascular, e a menor (0%), nos da hematologia infantil. Protrombina G20210A foi encontrada com maior prevalência entre as amostras dos pacientes da hematologia adulto (5%) e menor (1,3%) nos da cirurgia vascular. **Discussão:** A frequência alélica do polimorfismo FV Leiden encontrada na população estudada (1,8%) foi maior do que a descrita na população mundial (1%) e menor do que a encontrada na população holandesa (2%). A frequência alélica da protrombina G20210A (1,3%) foi maior do que a da população mundial (menor do que 1%) e menor do que a encontrada em Porto Rico e Itália (3-4%). No caso homozigoto para FV Leiden não houve concomitância com protrombina G20210A, porém foi encontrada heterozigose para o polimorfismo C677T da metilenoetetrahidrofolato-reductase (MTHFR), com homocisteína plasmática elevada. **Conclusão:** Os resultados preliminares mostraram frequência alélica dos polimorfismos na população estudada maior do que a da população mundial e suscitam estudos de caso mais aprofundados que ampliem a pesquisa com o polimorfismo MTHFR C677T.

HEMATOPOESE E CÉLULAS-TRONCO

273. INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA O PARÂMETRO FRAÇÃO IMATURA DAS PLAQUETAS (IPF)

Mendes CEA, Villarinho AAR, Passaro MS, Silveira PAA, Colombini MP

Laboratório de Hematologia e Coagulação, Laboratório Clínico, Departamento de Medicina Diagnóstica e Preventiva, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Estabelecer um intervalo de referência para o parâmetro IPF% para uso na rotina, visando a auxiliar especialmente os pacientes onco-hematológicos, uma vez que o IPF reflete o número de plaquetas reticuladas, ou seja, imaturas. Foi alvo de inúmeros estudos, como na correlação com a resposta da medula óssea. Valores altos são indicativos de produção aumentada, secundária a diferentes causas, como, por exemplo, consumo ou destruição plaquetária. Em contraste, valores baixos apontam para o comprometimento da produção medular, como na aplasia ou na infiltração da medula óssea. **Material e métodos:** O IPF% foi obtido pelo software XE Master, no equipamento Sysmex XE2100 (Roche®), em 100 amostras coletadas em tubo EDTA potássio (Sarsted®), proveniente de indivíduos saudáveis (48 homens e 52 mulheres) entre 15

e 79 anos. Foram analisadas as contagens das plaquetas e o IPF. Os intervalos de referência foram definidos com o método de distribuição não paramétrica de acordo com o guideline CLSI. O cálculo foi baseado na média geométrica dos resultados +/- 2 desvios padrões. **Resultados:** O intervalo de referência para o sexo masculino foi de 0,05 a 5,7%, e para o sexo feminino, de 0,03 a 5,6%. O valor adotado pelo fabricante é maior do que 3% tanto para homens como para mulheres. **Conclusão:** Existem muito poucos trabalhos na literatura. Consideramos que os nossos resultados refletem a população dos normais que atendemos. Somente a experiência com pacientes alterados irá demonstrar a real utilidade de seu uso na prática laboratorial e clínica.

274. EARLY HEMATOPOIETIC PROGENITORS OF DKC1 HYPOMORPHIC MUTANT MICE DISPLAY DECREASED PROLIFERATION RATE AND AN IMPAIRED CONTROL OF SERINE/ARGININE-RICH SPLICING FACTOR 4 (SRSF4) TRANSLATION

Lucena-Araujo AR^{a,b}, Santana-Lemos BA^{a,b}, Thome CH^b, Ferreira GA^b, Ruggero D^c, Faa VM^{a,b}, Rego EM^{a,b}

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Centro de Terapia Celular, Ribeirão Preto, SP, Brazil

^c University of California in San Francisco (UCSF), San Francisco, United States

The X-linked form of dyskeratosis congenita (X-DC) is caused by mutations in *DKC1*, which encodes for dyskerin, a putative pseudouridine synthase that mediates the post-transcriptional modification of ribosomal RNA (rRNA) through the conversion of uridine to pseudouridine. Patients with X-DC display defects in the pseudo-uridylation of rRNA, which lead to translational upregulation of IRES-containing mRNAs and affects the affinity of the ribosome for these mRNAs. Studies *in vivo* and *in vitro* suggest that the pseudo-uridylation of rRNA is the underlying mechanism responsible for the enhanced susceptibility to cancer in these patients. Ruggero et al. have previously reported that hypomorphic *Dkc1^m* (*Dkc1^m*) mice present pancytopenia associated with hypocellularity of the bone marrow (BM) and increased susceptibility to cancer, therefore constituting a reliable model to study the effect of impaired ribogenesis on hematopoiesis and oncogenesis. However, the cellular and molecular mechanisms leading to BM failure in X-DC remain unknown. Here, the authors describe the *in vivo* analysis of the proliferation rate of hematopoietic progenitors in *Dkc1^m* mice and compare the proteomic profile of hematopoietic progenitors between *Dkc1^m* mice and wild-type (WT) controls. For *in vivo* proliferation assays, 1 mg of bromodeoxyuridine (BrdU) was injected intraperitoneally in 16 mice (eight WT and eight *Dkc1^m*), and BM cells were harvested by flushing the bone cavity, followed by immunofluorescence staining of incorporated BrdU and flow cytometric analysis. No differences were detected in the number of lineage-negative (Lin⁻), Sca1-positive, c-KIT-negative (LSK⁻) cells, multipotent precursors (MPP), common myeloid progenitors (CMP), common lymphoid progenitors (CLP), and immature B (B Lin) and erythroid (Eryt) cells between *Dkc1^m* and WT mice. Nevertheless, the BrdU incorporation was lower in LSK cells and CMPs from *Dkc1^m* mice ($p < 0.05$), indicating a lower proliferation rate. Using *in vitro* stable isotope labeling of amino acids (SILAC, an approach for quantitative proteomics), hematopoietic progenitor cells were cultured in complete medium containing 10% fetal bovine serum and cytokines (6 ng/mL mIL-3, 10 ng/mL mIL-6, and 100 ng/mL mSCF). After 2-3 weeks of culture, murine hematopoietic progenitors were collected and equal amounts of cells from *Dkc1^m* and WT mice (labeled or not with heavy amino acid) were mixed for protein extraction and analyses. Using this approach, about 3,500 differentially expressed proteins were identified, including proteins related to mRNA assembly and splicing, chromatin remodeling, apoptosis, and cell cycle arrest. Interestingly, one of the most differentially expressed proteins between WT and *Dkc1^m* mice (WT light/*Dkc1^m* heavy ratio: 18-fold) was the Serine/arginine-rich splicing factor 4 (*Srsf4*); a member of the splicing factor family frequently associated with alternative splicing of genes related to hematopoietic progenitor cell differentiation. Altogether, these preliminary results reveal defects in the transcription/translation of specific mRNAs in *Dkc1^m* cells. Additionally, it is conceivable that the down-regulation of *Srsf4* protein could be associated with the low proliferative rate in *Dkc1^m* mice and explain the impairment of hematopoiesis in X-DC patients.

275. CXCR7, UM OUTRO RECEPTOR PARA CXCL12, TEM EXPRESSÃO GÊNICA REDUZIDA NA CÉLULAS DA MEDULA ÓSSEA DOS CAMUNDONGOS NOCAUTES HETEROZIGOTOS DA PROTEÍNA ARHGAP21

Melo RCC, Bigarella CL, Vieira K, Ricon L, Xavier JM, Saad STO

Centro de Hematologia e Hemoterapia, Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia do Sangue, Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brasil

Introdução: A ativação de CXCR7 e/ou CXCR4 pela quimiocina CXCL12 pode induzir uma variedade de respostas, a depender do tipo celular, tais como migração, sobrevivência e proliferação. Além disso, é bem sabido que a via CXCL12/CXCR4 é a mais importante no *homing* e na mobilização de células progenitoras para a medula óssea (MO) e para o sangue periférico, respectivamente. Embora a função de CXCR4 esteja consolidada nesses processos, o papel de CXCR7 ainda não está claro. A proteína Arhgap21 é uma Rho-GTPase que interage com proteínas *downstream* à via de sinalização CXCL12, como PKCzeta e FAK, e a redução da sua expressão em camundongos C57BL/6 nocautes heretozigotos leva à diminuição do *homing* e da adesão de células progenitoras na MO. Isso indica que a Arhgap21 pode ser uma forte candidata a regular a via do CXCL12. **Objetivo:** Analisar a expressão gênica dos receptores CXCR7 e CXCR4 e dosar os níveis de CXCL12 no sobrenadante celular da medula óssea de camundongos nocaute heretozigotos, a fim de analisar se havia alguma diferença quando comparados com os camundongos selvagens. Expressão do RNA de CXCR7 e CXCR4 foi analisada por RT-PCR (normalizada por HPRT) em células totais da MO de 17 camundongos C57BL/6 selvagens e de 20 camundongos C57BL/6 nocautes heretozigotos da Arhgap21. Já a dosagem de CXCL12 foi feita com o método de Elisa. **Resultados:** Não foi observada uma diferença significativa na expressão de CXCR4 entre os dois grupos, porém, a expressão de CXCR7 foi significativamente menor nas amostras que apresentaram diminuição da proteína Arhgap21 (1,09 [0,24-2,49] vs 0,60 [0,00-1,78]; $p = 0,0161$, teste de Mann-Whitney). Também não houve diferença significativa nos níveis de CXCL12 entre os camundongos controles e nocautes heretozigotos da Arhgap21. **Conclusão:** A redução da proteína da Arhgap21 pode interferir na via CXCL12/CXCR7, diminuir a expressão e, conseqüentemente, a localização membranar do receptor CXCR7 na membrana das células da MO ser a causa do menor *homing* e da adesão das células progenitoras.

276. ADIPOCITY MESENCHYMAL STEM CELLS (AT-MSCS) ADHERE AND PROLIFERATE ON POLYLACTIC ACID SCAFFOLDS: AN OPTION TO ARTIFICIAL ORGAN?

Manzini BM, Duarte AS, Oliveira R, Volpe B, Kharmandayan P, Saad STO, Jardini A, Luzo A

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

Introduction: Regenerative medicine, a confluence of bio-engineering and stem cell therapy, is an alternative for tissue and organ damages. Stem cells are undifferentiated cells with great capacity of proliferation, self-renewal, and differentiation into different lineages; they can be obtained from many sources. Mesenchymal stem cells (MSCs) have immunomodulatory capacity, and also differentiate into endo, ecto, and mesodermal lineages. MSCs are easily obtained from adipose tissue (AT) by liposuction, which makes AT-MSCs an ideal source for cell therapy. Biopolymers, such as polylactic acid, (PLA), are structures used as scaffolding for tissue engineering. PLA could guide the regenerative process without being removed, due to its capacity of being absorbable, biodegradable, and biocompatible. This study aimed to analyze the adhesion and proliferation ability of AT-MSCs on PLLA (a PLA blend) scaffolds. **Material and methods:** PLLA was manufactured from L-lactide, by ring opening polymerization. The tablets (0.5 mm in diameter and 0.3 mm in length) were molded by hot pressing (30', 90°C/130°C press temperature and 900 PSI pressure). PLLA was sterilized by ethylene oxide and its porosity was analyzed by scanning electronic microscopy (SEM). AT was collected by liposuction. All donors signed an informed consent. AT was submitted to collagenase digestion, cultured (DMEM low glucose medium, SFB) for three days. Detached adherent cells, at passage four, were characterized as MSCs by flow cytometry, morphology changes (light and confocal microscopy), and mesodermal lineages differentiation. Genetic instability was analyzed by telomerase enzyme activity and karyotype analyses. AT-MSCs were placed on PLLA and cultured for seven days.

Adhesion and proliferation ability were analyzed by SEM. **Results:** PLLA presented about 100 µm of pore size. Adherent cells were confirmed as MSCs by morphology (fibroblastic display) and immunophenotype results. Telomerase enzyme activity and karyotype analysis showed no AT-MSCs genetic instability. AT-MSCs were able to adhere and proliferate on the surface and inside of the PLLA, fully covering the scaffold. **Conclusion:** PLLA was biocompatible with AT-MSCs, and represents a promising alternative to artificial organs.

277. GREEN TEA MODULATES MYELOID CELL POPULATION

Torello CO, Lopes T, Paula EV, Queiroz MLS, Saad STO

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

Coordinated arrangement of the bone marrow microenvironment is essential to maintaining hematopoietic stem cells (HSC) and progenitor cells (HPC). Non-physiological or stress conditions (like infections) can affect quiescence with consequent proliferation/differentiation and mobilization of these cells. This impact in HSC and HPC could be involved in the development of hematopoietic malignancies. In this concern, beneficial effects of green tea (GT) are well known, including the ability to inhibit the different stages of cancer development due to the presence of large amounts of polyphenolic compounds. In this sense, the effects of GT were studied in the mature and immature myeloid population (Gr-1⁺Mac-1⁺ cells) and on the number of granulocyte-macrophage colonies (CFU-GM) in mice challenged with lipopolysaccharide (LPS). A dose of 250 mg/kg body weight GT was given once every seven days by oral route (gavage) to Balb/C mice (n = 6/group). Mice were challenged with i.p. injection of 100 µg LPS. The control group received vehicle only. After 72 hours, mice were sacrificed; bone marrows, spleens, and peripheral blood were collected and Gr-1⁺Mac-1⁺ cells were analyzed by cytometry. Growth and differentiation of bone marrow and spleen progenitors (CFU-GM) were studied by clonal culture. The percentage of Gr-1⁺Mac-1⁺ cells was reduced in the bone marrow of mice challenged with LPS (14.7 ± 8.8% vs. control 32.7 ± 3.3%; $p < 0.001$, ANOVA-Tukey). On the contrary, increases in the percentage of this population were observed in the spleen (4.0 ± 1.1% vs. control 1.2 ± 0.3%; $p < 0.0001$, ANOVA-Tukey) and peripheral blood (66.5 ± 10.0% vs. control 26.2 ± 3.6%; $p < 0.0001$, ANOVA-Tukey) of these mice. GT treatment prevented these changes induced by LPS, maintaining levels similar to control group in the bone marrow (37.9 ± 12.0% vs. control 32.7 ± 3.3%; $p < 0.0001$, ANOVA-Tukey), and partially in the spleen (2.8 ± 0.4% vs. control 1.2 ± 0.3%; $p < 0.05$, ANOVA-Tukey) and peripheral blood (36.9 ± 11.8% vs. control 26.2 ± 3.6%; $p < 0.0001$, ANOVA-Tukey). According to this, in mice challenged with LPS, CFU-GM numbers were reduced in the bone marrow (85 ± 5 vs. control 140 ± 9; $p < 0.01$, ANOVA-Tukey) and increased in the spleen (83 ± 7 vs. control 32 ± 4; $p < 0.001$, ANOVA-Tukey). GT treatment normalizes CFU-GM in the bone marrow (129 ± 10 vs. control 140 ± 9; $p < 0.01$, ANOVA-Tukey) and spleens (59 ± 7 vs. control 32 ± 4; $p < 0.01$, ANOVA-Tukey) of these mice. These findings indicate that modulation by GT on the altered mature and immature myeloid population induced by LPS could be related to some impairment in the quiescence or proliferation/differentiation and mobilization of HSCs.

278. OXALOSE MEDULAR

Mattos VRP, Helman R, Vargas JC, Pasqualin DC, Bezerra AMPS, Hamerschlak N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Hiperossalúrias primárias são desordens autossômicas recessivas raras, cujo quadro clínico consiste em litíases urinárias de repetição e nefrocalcinose. Com a deterioração da função renal, ocorre redução da capacidade de excreção do oxalato, elevação de seus níveis plasmáticos e deposição nos tecidos. A oxalose medular pode levar a citopenias de graus variados. Tem como apresentação mais comum anemia refratária à reposição de eritropoietina. **Objetivo:** Relatar um caso de pancitopenia secundária a oxalose medular. **Relato de caso:** Paciente feminino, 32 anos, desde os 17 apresentava litíases renais de repetição. Foi submetida a várias sessões de litotripsia extracorpórea. Evoluiu com perda progressiva da função renal e em 2008 começou a fazer hemodiálise. Foi submetida a transplante renal em 2009 e após três meses voltou a apresentar cálculos renais. Evoluiu com perda progressiva da função do enxerto, com necessidade de reiniciar hemodiáli-

se em 2011. A biópsia do enxerto renal evidenciou glomérulos globalmente fibrosados, túbulos com acúmulos de cristais de oxalato na luz e nefrite intersticial crônica. Na investigação etiológica foi encontrada a mutação do gene AGXT, que confirmou o diagnóstico de hiperoxalúria primária tipo 1 (HP1). Durante o seguimento, evidenciou-se anemia normocítica e normocromica, refratária à reposição de eritropoietina, associada a reticulocitopenia, leucopenia e plaquetopenia. Exames laboratoriais: hemoglobina 6 g/dL, leucócitos 700/mm³, plaquetas 71.000/mm³; reticulócitos 57.100/mm³. Foi feito mielograma, que evidenciou acentuada hipocelularidade. A biópsia de medula óssea demonstrou extensa substituição do tecido medular por deposição de cristais de oxalato, circundados por células gigantes multinucleadas, fibrose estromal e escassa hematopoiese residual, compatível com oxalose medular. Foi submetida a terapia de apoio, com eritropoietina, fatores estimuladores de formação de colônias de granulócitos e terapia transfusional conforme necessário. Em maio de 2013 foi submetida a transplante combinado de fígado e rim. Houve boa resposta à terapia inicial, com manutenção dos leucócitos em níveis normais. Permaneceu em acompanhamento ambulatorial e apresentou melhoria progressiva dos índices hematimétricos. Atualmente, passados 12 meses do transplante, encontra-se sem necessidades transfusionais, com níveis normais de leucócitos e plaquetas, hemoglobina de 9,3 g/dL e mantém o uso de eritropoietina. **Discussão:** A HP1 corresponde a 80% dos casos de hiperoxalúrias primárias e é a forma mais severa. A clínica consiste em nefrocalcinose e litíase urinária de repetição. Ocorre dano renal progressivo e, com a redução da taxa de filtração glomerular, os níveis de oxalato plasmático se elevam e se depositam nos tecidos. O depósito na medula óssea pode levar a citopenias de graus variados. O único método curativo é a reposição enzimática, por meio do transplante hepático. O tratamento de escolha envolve o transplante combinado de fígado e rim. Após o transplante renal, ocorre melhoria da função hematopoética da medula, resultante do efeito combinado da remoção gradativa dos depósitos de oxalato de cálcio, produção de eritropoietina endógena pelo rim transplantado e redução da resistência à ação desta. O apoio hematológico a visa manter níveis hematimétricos mínimos até que a capacidade hematopoética da medula seja restaurada.

279. DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE REFERÊNCIA DAS HEMOGLOBINAS NORMAIS EM SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL E PLACENTÁRIO PELA METODOLOGIA DE ELETROFORESE CAPILAR

Bó SD, Cagliari CR, Lemos FKO, Pedrazzani FS, Scotti L

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

Introdução: O sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP) é uma fonte rica em células-tronco hematopoéticas amplamente usado nos transplantes, como tratamento das doenças que há pouco tempo não apresentavam opções terapêuticas satisfatórias. Além dos progenitores hematopoéticos, o SCUP contém progenitores endoteliais e mesenquimais, que sugerem sua possível aplicação nos novos protocolos de terapia celular. Nesse novo cenário terapêutico surgiu a necessidade de serem criados bancos de sangue de cordão umbilical e placentário (BSCUP), com objetivo de armazenar esse material rico em células-tronco hematopoéticas. Antes do processo de coleta, as gestantes passam por uma triagem na qual é feita avaliação da saúde e dos exames pré-natais. São feitos exames de sangue da mãe e do SCUP para garantir a qualidade do sangue que foi colhido. O SCUP coletado logo após o nascimento da criança é processado e mantido congelado até a infusão. A detecção de hemoglobinas anormais é um dos testes de triagem feitos no SCUP. O sangue normal de adulto tem predomínio de hemoglobina A (HbA) e no sangue de cordão predomina a hemoglobina F (HbF). Após o nascimento, a síntese de HbA é intensamente ativada e substituiu gradativamente a HbF. **Objetivo:** Determinar o intervalo de referência para HbA, HbF e HbA2 no SCUP por meio da metodologia capilar. **Material e métodos:** Estudo observacional e retrospectivo, que usou como população a análise das amostras de SCUP enviadas do BSCUP-HCPA para eletroforese de hemoglobinas de abril de 2012 a maio de 2013. Foram analisadas 273 amostras de SCUP, distribuídas nas etnias: 20 negros, 209 brancos, 40 mestiços e três não definidos, 139 do sexo feminino. Todos os cordões atenderam aos critérios do BrasilCord, ou seja, doadoras com mais de 18 anos, ter feito no mínimo duas consultas pré-natal, idade gestacional acima de 35 semanas no momento da coleta e não ter,

no histórico médico, doenças neoplásicas e/ou hematológicas. **Resultados:** Nessas amostras encontramos para HbA 19,9% (10,5-36,7%), para HbF 80,1% (62,7-89,4%) e para HbA2 0,1% (0,0-0,6%); os dados foram expressos como mediana (P2,5-P97,5). Todos os parâmetros foram submetidos à análise de variância para comparação entre sexos e etnia e não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). **Conclusão:** Por causa da dificuldade de se encontrarem na literatura intervalos de referência das hemoglobinas normais em sangue de cordão umbilical, surgiu a necessidade de estabelecermos esses intervalos nessa população. A determinação de intervalos próprios é a melhor escolha para a maioria dos testes, uma vez que reflete a condição da população e da metodologia para o qual os testes serão aplicados. Segundo recomendação do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), os valores de referência devem ser estabelecidos em conjunto com a validação dos intervalos fornecidos pelo fabricante do reagente e com publicações científicas recentes. A escolha de intervalos de referência adequados é fundamental para que os laboratórios clínicos forneçam informações fidedignas e que os clínicos possam interpretar corretamente os resultados e optar pelas melhores condutas diante da população assistida.

280. THE TUNICA ADVENTITIA AS A NICHE OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN ADIPOSE TISSUE

Beckenkamp LR^{a,b}, Souza LEB^{a,b}, Melo FUF^{a,b}, Silva RB^{a,b}, Rosique MJ^c, Junior JAF^c, Covas DT^{a,b}

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^c Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) are subject of great interest in the scientific community, mainly for their potential use in cell-based therapies. However, the *in vivo* identity of MSCs remains unknown. A recurrent theory postulates that cultured MSCs would correspond to pericytes *in vivo*, since both cell types share the expression of some molecular markers and because MSCs are obtained from perivascular sites. However, this question remains unresolved, since several other perivascular cells share the expression of molecular markers used to identify pericytes *in vivo*. Recent studies in adipose tissue reported that adventitial cells, which occupy the outermost perivascular layer of blood vessels, display an immunophenotypic profile (CD34⁺CD146⁺CD31⁻), which differs from that expressed by pericytes (CD34⁺CD146⁺CD31⁻). Using this strategy, it was investigated whether adventitial cells contain adipose tissue-derived MSCs (AT-MSCs). Additionally, it was evaluated whether the bone marrow MSC marker CD271 is also effective in enriching AT-MSCs from adventitial cells. Freshly isolated adventitial cells from human adipose tissue samples were sorted based on CD271 expression to obtain CD271⁺ (CD34⁺CD31⁻CD45⁻CD271⁺) and CD271⁻ cells (CD34⁺CD31⁻CD45⁻CD271⁻). The expression of the pericyte markers CD146 and NG2 was evaluated in both cell populations to confirm the absence of pericytes after cell isolation. In parallel, functional and immunophenotypic assays were conducted to verify whether these adventitial cells are endowed with the characteristics of MSCs. Analysis of the gene expression reveals almost undetectable transcriptional levels of the pericyte markers NG2 and CD146 in both subpopulations (CD271⁻ = 0,98 and 2.71 relative units of expression [RUE]; CD271⁺ = 3,69 and 1.85 RUE, respectively). These results demonstrate that the sorted adventitial cells are not contaminated with pericytes. Interestingly, immunophenotypic analysis demonstrated that both markers are strongly up-regulated following *in vitro* culture (CD271⁺ = 45.9% and 25.9%, CD271⁻ = 43.6% and 24.8%, respectively). This observation remarkably indicates that expression of pericyte markers by MSCs might be a side effect of culture conditions rather than a reflex of their native phenotype. In order to access the MSCs properties *in vitro*, cells were grown in standard conditions (DMEM media) and evaluated for their morphology, clonogenic capacity, immunophenotypic profile, and differentiation potential. Both populations of AT-MSCs displayed fibroblastic morphology and high expression of the MSC markers CD90, CD73, and CD105. Furthermore, all cells were able to accumulate lipid vesicles after adipogenic

induction and generate CFU-Fs (CD271⁺ = 1.01% ± 0.4% and CD271⁻ = 1.92% ± 0.5%). Taken together, these results support the hypothesis that adventitial cells from adipose tissue are a perivascular reservoir of mesenchymal stem/progenitor cells. Although the CD271⁺ cell fraction is enriched with MSCs in bone marrow, it was shown that, in adipose tissue, cells with MSC traits such as CFU-F activity and multilineage potential are distributed between CD271⁺ and CD271⁻ cells. It demonstrates that the tissue of origin alters the phenotype of MSCs. In conclusion, these findings shed light on the native identity of MSCs, supporting the theory that they may correspond to adventitial cells within the perivascular wall rather than pericytes.

281. STUDY OF THE ROLE OF ARHGAP21, A RHOGAP PROTEIN, DURING MEGAKARYOCYTE DIFFERENTIATION OF HEL CELLS

Bernusso VA, Lazarini M, Machado-Neto JA, Barcellos KSA, Saad STO

Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Background: During megakaryocyte maturation, a complex process involving the reorganization of cytoskeletal proteins defines the cell morphology and function in the bone marrow. The Rho family GTPases are key regulators of intracellular signaling and cytoskeletal dynamics in cell differentiation. ARHGAP21 is a regulator Rho GTPases activity, but its participation in megakaryocyte formation remains unknown. **Aims:** To investigate the role of ARHGAP21 during megakaryocyte differentiation using the HEL cell line. **Materials and methods:** Megakaryocyte differentiation was induced in HEL cells by treatment with 20 nMphorbolmyristate -13 -12 acetate (PMA) for four days. ARHGAP21 protein expression was evaluated by western blotting and the expression of CD61, CD41, and CD42 markers was measured by flow cytometry during megakaryocytic differentiation. Also, cell morphology, ARHGAP21 localization, and cytoskeleton organization were observed by immunofluorescence and confocal microscopy. **Results:** Modulation of ARHGAP21 expression during megakaryocyte differentiation was observed. In the first day treatment with PMA, the expression of ARHGAP21 was increased, followed by a strong decrease in the second day and a restate in the third and fourth days. The increased ARHGAP21 expression in the first day was concomitant to the upregulation of CD61, CD41, and CD42 markers. PMA treatment also induced nuclear replication and promoted morphological changes, consistent to megakaryocyte phenotype. Interestingly, ARHGAP21 was localized in cell protrusions and showed co-localization with both alpha-tubulin and actin. **Conclusions:** The participation of ARHGAP21 protein in cytoskeletal dynamics and its altered expression during megakaryocytic differentiation indicate that ARHGAP21 plays an important role in this process. ARHGAP21 may act as a signaling protein of the Rho GTPases during maturation of megakaryocytes. **Funding:** FAPESP, CNPq.

282. GERAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO PLURIPOTENTES INDUZIDAS A PARTIR DE SANGUE PERIFÉRICO

Junqueira-Reis LC^a, Moreira LF^b, Picanco-Castro V^c, Marques MM^d, Araújo FT^d, Carramaschi LVP^d, Covas DT^{b,c}, Russo EMS^a

^a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^d Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma doença monogênica resultante de uma mutação recessiva no gene da β-globina que origina uma hemoglobina anormal. Essa gera hemácias deformadas e enrijecidas que sobrevivem menos em circulação. O único tratamento potencialmente curativo para AF é o transplante de células-tronco hematopoiéticas (CTH), porém esse é um procedimento de risco, apenas recomendado para casos graves com doador compatível. A terapia gênica com CTH do próprio paciente representou uma opção e potencial cura. Entretanto, a falta de metodologia para expansão eficiente e para modi-

ficações genéticas de CTH, além do risco de mutagênese insercional dos vetores virais, é uma limitação. A tecnologia de geração de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC) forneceu uma ferramenta poderosa na investigação da diferenciação de tecidos e na criação de modelo de doenças genéticas, além de abrir caminho para a produção de células paciente-específicas para terapia celular, pois captura o genoma do paciente e fornece uma fonte inesgotável de células imunologicamente compatíveis para experimentação e transplante. As células mais usadas na reprogramação têm sido os fibroblastos de pele, porém necessita-se de biópsias e de expansão dessas células por várias passagens *in vitro*. Nesse contexto, o sangue periférico representa uma fonte mais acessível de células de pacientes para reprogramação, sem a necessidade de extensiva manutenção em cultura. **Objetivo:** Obter iPSC a partir de células mononucleares de sangue periférico (PBMC) de um paciente com AF. **Material e métodos:** As PBMC foram coletadas e processadas a partir de sangue periférico de um paciente do Hemocentro de Ribeirão Preto, após o aceite e assinatura do termo de consentimento. As células foram cultivadas em meio suplementado com citocinas específicas para a expansão de eritroblastos e depleção de células T. Após 14 dias de expansão, as células foram transfectadas com um vetor plasmidial com cinco fatores de reprogramação (OCT4, SOX2, KLF4, C-MYC e LIN28) por meio de nucleoporação. Após a transfecção, as células foram coletadas e replaqueadas sobre fibroblastos embrionários murinos. Após nove dias da nucleoporação, as primeiras colônias já eram visíveis e após 14 dias foram feitos os primeiros repiques. As células obtidas, após sucessivas passagens, foram caracterizadas quanto ao potencial pluripotente, pela expressão de marcadores de pluripotência e quanto ao potencial de diferenciação, por meio da formação de corpos embrioides e avaliação da expressão de marcadores dos três folhetos embrionários. **Resultados:** As células obtidas apresentaram morfologia semelhante às células-tronco embrionárias e expressão dos marcadores de pluripotência Nanog, Oct4, TRA-1-60, TRA-1-81, SSEA-4. A avaliação da expressão gênica dos corpos embrioides mostrou marcação para alpha-fetoproteína (endoderme), b-tubulina III (ectoderme) e alfa-SMA (mesoderme). **Conclusão:** A tecnologia de iPSC pode fornecer uma nova abordagem para o tratamento da AF; porém, algumas barreiras precisam ser superadas para torná-la amplamente aplicável. Uma delas é o uso dos fibroblastos como fonte para geração das iPSC que crie a necessidade de biópsias e de expansão por várias passagens *in vitro*. Idealmente, a geração de iPSC deveria evitar a obtenção invasiva de tecidos, pois reduz o número de pacientes que aceitam a doação de células.

283. IN VITRO GENERATION OF MATURE STEM/PROGENITOR HEMATOPOIETIC CELLS WITH GREAT CLONOGENIC POTENTIAL FROM HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS

Costa EBO^{a,b}, Moreira LF^b, Orellana MD^b, Wagatsuma VMD^b, Silva RB^b, Magalhães DAR^b, Covas DT^{a,b}

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Células-Tronco e Terapia Celular (INCTC), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Transplantation of hematopoietic stem cells (HSCs) is the most successful type of cell therapy. The most frequently used sources for obtaining HSCs are bone marrow, mobilized peripheral blood, and umbilical cord blood. Despite the importance of isolated HSCs of adults in clinical practice, obtaining and using these cells have some limitations. The number of donors is still far below the needs of transplants. Furthermore, it is necessary that the donor is compatible with the HLA system of the transplant recipient. Thus, the discovery of alternative sources of HSCs to supply the demand for transplants is necessary. An alternative to overcome this problem would be the cultivation and differentiation of human embryonic stem cells (hESCs). These cells represent a population of pluripotent stem cells with a high capacity for self-renewal and differentiation in cells derived from the three germ layers. However, current protocols for hESC differentiation and HSCs production are not efficient. CD34⁺ HSCs obtained by almost all the research groups represent a very primitive population of HSCs with poor *in vivo* functional capacity. Recent studies have demonstrated that mature and functional HSCs present the CD45⁺CD43⁺CD34^{low}/phenotype with low expression of CD34 and high expression of CD45 and CD43. A differentiation system was developed based on co-culture of hESC 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 stem/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) and myeloid (CD14, CD15, CD16)-specific markers, all of them with typical morphological characteristics. It was demonstrated that it is possible to obtain a population of CD45+CD43+CD31+CD34^{low} cells by this protocol. It was also 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* comparable to umbilical cord blood mononuclear cells. They were able to generate BFU-E, CFU-GEMM, and CFU-GM hematopoietic colonies. Scanning electron microscopy analysis revealed the interaction of hematopoietic cells with stromal cells within the microenvironment created *in vitro*. *In vivo* transplant assays are being conducted to better characterize the functional potential of these cells. These results demonstrate that it is possible to obtain mature HSCs from hESCs, and represent a promise for future clinical applications.

284. MICRORNAS CAN INDUCE SIGNIFICANT ALTERATIONS IN CELL CYCLE: INSIGHTS FOR INDUCTION OF PLURIPOTENCY

Sastre D^a, Lima IMS^b, Schiavinato JLS^b, Guerreiro JF^a, Santos EJM^a, Covas DT^c, Zago MA^b, Panepucci RA^c

^a Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brazil

^b Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^c Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

MicroRNAs (miRNAs) are small RNA molecules that act in regulating gene expression post-transcriptionally, and have great effects in cell transcriptional network and cell fate. A set of miRNAs is down-regulated while another is up-regulated upon embryonic stem cells (ESC) differentiation, indicating that the first group supports the undifferentiated state whereas the second favors the differentiation process. Some of those miRNAs have been used to reprogram somatic cells into induced pluripotent stem cells (iPSC). It is also known that differentiation negatively correlates with proliferation, and also that a shortened G1 phase is a characteristic of pluripotent cells. Based on this evidence, it was hypothesized that significant changes in the cell cycle could be a good predictor of miRNAs with potential application for iPSC generation. This study aimed to evaluate the effects of a miRNA library on the proliferation, viability, and cell cycle of a somatic cell line (BJ Foreskin Fibroblasts). For this, 2,000 cells were seeded in 96-well microplates and transfected with 50nM of 28 microRNAs mimics (pre-miRNA) and inhibitors (anti-miRNA) in quadruplicates and cultivated for five days. Cell proliferation was measured by XTT assay. To evaluate the cell viability after transfection with pre- and anti-miRNAs, the nuclear stain Sytox Green was used to identify unviable cells. MicroRNAs with markedly effect on the proliferation were tested for their effect on the cell cycle, using EdU assay. A High-Content Screening platform (HCS-Operetta, Perkin Elmer) was used to acquire and quantify the images generated in the viability and cell cycle assays. qPCR was used to measure differences in the expression of key cell cycle regulators. Predicted targets for the microRNAs were grouped into significantly enriched signaling pathways using the DAVID tool. This analysis found 19 treatments that significantly altered the proliferation of cells. Interestingly, when anti-miRNAs against miRNAs known to be expressed in BJ cells were used, the proliferation was altered, such as for miRNA-20b, miRNA-222, miRNA-101, and miRNA-181d. For miRNA-101 and -181d, their pre-miRNAs significantly induced cell proliferation while their anti-miRNAs reduced the proliferation. Opposite effects such as that are expected for this type of approach and indicate the biological relevance of the effects seen. Both pre-miRNA-101 and pre-miRNA-181d induced a significant reduction in the percentage of cells in the S phase. To test for possible biological mechanisms, the expression of regulators of cell cycle was analyzed by qPCR. CCND1 was mildly and strongly induced by pre-miRNA-101 and by pre-miRNA-181d, respectively. CTNNB1 was strongly induced by the same treatments. Pre-miRNA-181d also increased the

expression of E2F1. Nevertheless, these treatments did not alter the expression of TP53. Among the signaling pathways modulated by the miRNAs tested, WNT, TFG- β , and MAPK were represented. In conclusion, the miRNAs tested here were able to modulate proliferation and regulate the cell cycle, which is regarded as one of the crucial steps during the induction of pluripotency. The effects elicited by the tested miRNAs can potentially be used as means to enhance the rate of generation of iPSC. **Funding:** CNPq, FAPESP.

285. REGIME NÃO MIELOABLATIVO COM CICLOFOSFAMIDA PÓS-TRANSPLANTE ALOGÊNICO APARENTADO HAPLOIDÊNTICO EM ANEMIA APLÁSICA SEVERA: EXPERIÊNCIA BRASILEIRA

Esteves I^a, Santos FPS^a, Helman R^a, Bub CB^a, Torres M^a, Fernandes JF^a, Kerbauy F^a, Ribeiro AAF^a, Colturato V^b, Souza MP^b, Bonfim C^c, Pasquini R^d, Funke V^c, Rocha V^d, Novis Y^d, Arrais C^d, Hamerschlak N^a

^a Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

^c Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^d Hospital Sírio Libanês, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Terapias efetivas para anemia aplásica (AA) consistem de imunossupressão ou transplante de células hematopoiéticas (TCH) alogênico. Para pacientes que não têm doador 100% compatível, são elegíveis fontes opcionais de células hematopoiéticas. Uma nova abordagem no condicionamento e na imunossupressão pós-TCH haploidêntico permitiu transpor as disparidades do sistema HLA. **Objetivo:** Descrever os casos de TCH alogênico haploidêntico em pacientes portadores de AA severa e seus principais desfechos. **Material e métodos:** Analisamos 20 TCH haploidênticos de junho de 2010 a julho de 2014 provenientes de quatro centros transplantadores no Brasil. Foram 17 pacientes que se submeteram a um primeiro TCH haploidêntico e três submetidos ao segundo TCH haploidêntico. **Resultados:** O tempo médio de sobrevida foi de 595 dias, com sobrevida global de 75%. Foram cinco óbitos, três deles até D+100. A média de seguimento foi de 257 dias. A média de idade dos pacientes foi de 18 anos. Todos os pacientes tinham menos do que 15% de celularidade na medula óssea antes do transplante com dependência transfusional. Os tratamentos previamente ao TCH foram: 14 pacientes receberam CsA e ATG, três corticoide e CsA e três submetem-se a TCH haploidêntico. Nenhum deles tinha anticorpo anti-HLA positivo. Os regimes de condicionamento não mieloablativos (NMA) foram: ciclofosfamida (Cy) 29 mg/kg + Fludarabina (Flu) 150 mg/m² + Irradiação corporal total (TBI) (200 cGy-600 cGy) em 18 (90%) dos transplantados e Flu 150 mg/m² + ATG 7,5 mg/kg em dois (10%) transplantados. Esses últimos foram dois pacientes que já haviam recebido outro TCH prévio incluindo o regime com TBI 600cGy. A profilaxia para doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) foi Cy50 mg/kg/dia no D+3 e D+4 associado a inibidor de calcineurina (CsA ou FK-506) e micofenolato mofetil (MMF). Predominou medula óssea em 17 transplantados como fonte de células, assim como de sangue periférico em três TCH. A média de células nucleadas foi de 4,92 x 10⁸/kg, enquanto a média de células CD34+x10⁶/kg foi de 3,41. A mediana de tempo de enxertia neutrofílica (> 500/microL) foi de 18 dias (16-27) e mediana para enxertia plaquetária foi de 22 dias. Dos 17 pacientes que eram primeiro TCH, um teve falha primária de enxertia neutrofílica com quimerismo (STR) de 0% do doador e que, ao se submeter ao segundo TCH haploidêntico evoluiu com falha primária de enxertia. Um paciente foi a óbito antes de enxertar no 18º dia com quimerismo de 100% do doador no 17º dia pós-TCH. Para enxertia plaquetária: três foram a óbito antes de enxertar e dois não tiveram enxertia. Um deles foi o mesmo paciente que teve falha de enxertia e que se submeteu a outro TCH. Entre os três pacientes que se submeteram ao segundo TCH haploidêntico, apenas um teve falha primeira do enxerto (STR 0% do doador) e os outros dois tiveram enxertia neutrofílica, porém um deles teve falha de enxertia plaquetária. Três pacientes tiveram DECH agudo e um deles teve DECH crônico. A causa principal de óbito foi infecciosa. **Conclusão:** O uso de regime NMA com Cy pós-transplante em TCH haploidêntico tem vantagens. É uma terapêutica com baixas toxicidades se comparada aos métodos tradicionais de depleção de células T ex-vivo e com baixos custos. Permite a disponibilidade desses procedimentos, principalmente em pacientes sem doadores 100% compatíveis e prontamente disponíveis.

286. AVALIAÇÃO DO PAPEL DA VIA CANÔNICA E NÃO CANÔNICA DE NFκB NA MANUTENÇÃO DA PLURIPOTÊNCIA E NA DIFERENCIAÇÃO POR MEIO DA TÉCNICA DE IMUNOPRECIPITAÇÃO DE CROMATINA

Bezerra HLO^{a,b}, Leão V^{a,b}, Lima IMS^{a,b}, Schiavinato JL^{a,b}, Zapata LM^{a,b}, Pheeps DS^{a,c}, Fráguas MS^{a,d}, Covas DT^{a,d}, Zago MA^{a,d}, Panepucci RA^a

^a Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

^d Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: As células pluripotentes (CPs), em teoria, são capazes de dar origem a todos os mais de 200 tipos de células do organismo. Na natureza, há três tipos de células pluripotentes: tronco embrionárias, germinais embrionárias e de carcinoma embrionário. As características das CPs têm permitido um importante avanço para a pesquisa básica e apontam uma grande aplicabilidade na medicina regenerativa. No núcleo das CPs existem fatores atuantes responsáveis pela manutenção da identidade pluripotente; entre eles destacam-se OCT4, NANOG, SOX2, KLF4 e MYC. Muito já se sabe sobre os mecanismos em que esses fatores atuam para promover a manutenção da pluripotência celular. Baseados nesses estudos foi possível gerar células de pluripotência induzida (iPSCs). Porém, os mecanismos moleculares que direcionam a indução da pluripotência ainda não estão muito bem esclarecidos. **Objetivo:** Analisar a participação de componentes da via canônica (RelA e NFκB1) e não canônica (RelB e NFκB2) de NFκB nos processos de diferenciação e destino celular ou manutenção da pluripotência. **Material e métodos:** Usamos técnicas de PCR quantitativa em tempo real (qPCR) e imunoprecipitação de cromatina (ChIP) e pesquisamos os papéis das vias canônica e não canônica de NFκB na manutenção da pluripotência e diferenciação de CPs, em um modelo de indução de diferenciação celular mediado por ácido transretinoico (atRA) em células de carcinoma embrionário NTERA-2. Foram avaliadas as ligações dos fatores de transcrição RelA e RelB nas regiões promotoras dos genes OCT4, SOX2, MYC e KLF4 e a regulação transcricional associada. **Resultados:** As células não tratadas com atRA apresentaram níveis baixos na expressão dos componentes da via canônica de NFκB, RelA e NFκB1, e quando induzidas à diferenciação por atRA durante quatro dias, esses níveis se elevaram. Uma situação oposta foi vista nos componentes da via não canônica de NFκB, RelB e NFκB2 e na expressão dos fatores de pluripotência OCT4, NANOG, SOX2 e KLF4, que apresentaram níveis de expressão elevados nas células não tratadas com atRA e sofreram redução com a indução da diferenciação celular. O ensaio de ChIP revelou que RelA liga-se nas regiões de regulação dos genes OCT4, SOX2, KLF4 e MYC apenas quando a célula está em processo de diferenciação, enquanto RelB se apresentou ligado às mesmas regiões tanto nas células indiferenciadas quanto naquelas induzidas à diferenciação por quatro dias. **Conclusão:** Sugerimos que a via canônica de NFκB pode estar relacionada com o processo de diferenciação celular por meio da regulação negativa executada por RelA e NFκB1 nos genes responsáveis pela identidade pluripotente das células aqui estudadas, enquanto a via não canônica de NFκB, representada pela ativação de RelB e NFκB2, age na manutenção da pluripotência por meio da regulação positiva desses mesmos fatores. **Palavras-chave:** Células pluripotentes; carcinoma embrionário; pluripotência; diferenciação; NFκB.

287. IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS NA GERAÇÃO DE CÉLULAS HEMATOPOÉTICAS IN VITRO A PARTIR DE CÉLULAS-TRONCO EMBRIONÁRIAS HUMANAS COCULTIVADAS COM CÉLULAS ESTROMAIS OP9

Moreira LF^{a,b}, Costa EBO^{a,b}, Orellana MD^a, Picanco-Castro V^a, Covas DT^{a,b}

^a Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: Células-tronco hematopoéticas são capazes de se diferenciar em todas as linhagens celulares do sangue. Essas células

podem ser produzidas *in vitro* a partir de células-tronco embrionárias humanas (CTEh), um tipo especial de células capazes de autorrenovação e diferenciação em todos os tipos celulares encontrados no indivíduo adulto. Embora as CTEh tenham grande potencial de diferenciação, terapias celulares com células diferenciadas a partir das CTEh são somente possíveis se as células geradas forem equivalentes às células adultas. Entretanto, os sistemas de diferenciação *in vitro* usados para a geração de células hematopoéticas (CH), a partir de CTEh, são ainda ineficientes. Para superar esse obstáculo, é necessário identificar genes/proteínas e as vias moleculares envolvidas na diferenciação hematopoética. Um dos métodos usados para obter CH a partir de CTEh *in vitro* é o cocultivo das células pluripotentes com células estromais. Os fatores solúveis secretados por essas células e o contato célula-célula apresentam grande impacto no processo de diferenciação. Entretanto, as vias moleculares ativadas nas células estromais, após o contato com as CTEh, que induzem a diferenciação hematopoética, ainda são desconhecidas. **Objetivo:** Fazer a análise proteômica comparativa das células estromais OP9 antes e após a diferenciação *in vitro* de CTEh em células hematopoéticas, para identificar novos genes e vias moleculares envolvidas nesse processo. **Resultados:** Foram identificadas 759 proteínas, das quais 180 estavam superexpressas nas células OP9 no pico da diferenciação hematopoética, o que sugere que essas moléculas podem participar da geração de células do sangue. Treze proteínas superexpressas, Cat, Gstm5, Hsp90b1, Lmna, Pcbp1, Pdia4, Pdia6, Prdx1, Sec23a, Tpi1, Aldh3a1, Aldoa e Atpa1, são diretamente reguladas pelo gene Nrf2, um gene regulador de estresse oxidativo e descrito por ter um papel no desenvolvimento de células hematopoéticas e na migração e retenção dessas células no nicho. **Conclusão:** A identificação dessas proteínas fornece novas informações sobre as proteínas/genes envolvidos na geração de CH *in vitro* a partir de células pluripotentes e essas moléculas poderão ser usadas para aprimorar esse processo e produzir tipos celulares específicos do sangue.

288. UM MODELO PARA ESTUDOS DE DIFERENCIAÇÃO CELULAR EM CÉLULAS-TRONCO PLURIPOTENTES UTILIZANDO-SE DE ANÁLISES IMUNOFENOTÍPICAS E MORFOMÉTRICAS

Lima IMS^a, Sastre D^b, Bezerra HLO^a, Zapata LM^a, Covas DT^{c,d}, Zago MA^{c,d}, Panepucci RA^c

^a Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

^c Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^d Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP

Introdução: A pluripotência se define como a capacidade que alguns tipos celulares têm de gerar células dos três diferentes folhetos celulares (ectoderma, mesoderma e endoderma), bem como as linhagens germinativas. As células-tronco pluripotentes mais conhecidas são as embrionárias (CTE). As propriedades biológicas dessas células apresentam-se como potenciais ferramentas em diversas áreas da medicina e da indústria farmacêutica, mas seu uso na prática tem algumas complicações éticas, além de seu uso para a pesquisa exigir condições de cultivo muito específicas e de alto custo. Uma opção para o estudo da pluripotência em pesquisas científicas é o uso das células de carcinoma embrionário (CCE), que são pluripotentes e compartilham diversas similaridades com as CTE. Porém, a forma de cultivo dessas células requer menores gastos e manuseio mais simples. **Objetivo:** Usar culturas de CCE da linhagem celular NTERA-2, de origem humana, com o intuito de se desenvolver um modelo para estudos de diferenciação celular e manutenção da pluripotência com uma técnica recente, que permite a interrogação sistemática e em larga-escala de fatores que possam estar influenciando esses processos, técnica essa conhecida como High Content Screening (HCS). Essa técnica se baseia no uso de microscopia de fluorescência em placas *multiwell* (96 ou mais poços) e permite a aquisição e a análise automatizada das imagens, de forma a quantificar alterações fenotípicas nas células. **Material e métodos:** As células foram cultivadas em placas de 96 poços em três diferentes densidades celulares ($2,5 \times 10^3$; 5×10^3 ; 1×10^4 células/poço). Dois

grupos de tratamento foram usados: o grupo controle e o grupo tratado com ácido transretinoico (atRA, 10 μ M), um conhecido indutor de diferenciação celular. Os grupos tratados ou não com atRA foram mantidos em cultura por quatro dias, e então as células foram fixadas em solução de formol-metanol (2% de formol). As células foram marcadas com o anticorpo anti-OCT4 (marcador de pluripotência, DyLight 488), com Hoechst (marcador nuclear) e CellMask Deep Red (marcador celular). As imagens de fluorescência foram feitas no microscópio automatizado ImageXpress (Molecular Devices) e as análises das imagens foram feitas no software MetaXpress. **Conclusão:** A condição ideal para se estudar a diferenciação celular nessas culturas de célula seria usar a densidade celular de 5×10^3 células/poço, já que, nessa densidade, foram observadas modificações morfológicas e imunofenotípicas que, em conjunto, podem servir como uma potencial ferramenta para estudos em larga escala de possíveis moduladores da diferenciação celular e da pluripotência.

LEUCEMIAS AGUDAS

289. RELATO DE CASO DE ERITROLEUCEMIA COM APRESENTAÇÃO ATÍPICA

Zuppani LB^a, Daur EHJT^a, Rodrigues SDS^a, Oliveira CL^a, Tabacof J^b, Neto OFD^b, Jardini DP^b, Fernandes O^a

^a Dasa, São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital Paulistano, São Paulo, Brasil

Introdução: Leucemias eritroides agudas são leucemias que apresentam predomínio de elementos da série vermelha. Podem ter dois subtipos, a depender da presença ou não do componente mielóide. Eritroleucemia (eritroide/mielóide) é definida pela presença de número de blastos igual ou maior do que 50% das células da linhagem eritroide, além de 20% ou mais de mieloblastos na população celular não eritroide. Eritroleucemia pura é caracterizada pela presença na medula óssea de células eritroides imaturas (indiferenciada ou proeritroblastos) em número maior ou igual a 80% das células da medula óssea. **Relato de caso:** Paciente M.C.A., 71 anos, sexo feminino, foi recebida no Hospital Paulistano com problema ortopédico. Apresentava anemia discreta ao hemograma (10,0 g/dL de hemoglobina) e, com o decorrer da internação, evoluiu com queda da hemoglobina. Mielograma 16/04/2013: medula discretamente hipocelular, com 18% de elementos da série vermelha, 5% de proeritroblastos com alterações morfológicas. Presença de megaloblastos, eritroblastos binucleados e irregularidade citoplasmática. Série tranulocítica com discreto assincronismo de maturação, 1% de mieloblastos e série megacariocítica sem alterações morfológicas. Ferro medular: 30% de sideroblastos em anel. No cariótipo da mesma data: 45, XX, deleção do braço longo do cromossomo 5; deleção terminal do braço longo do cromossomo 7; monossomia do cromossomo 19 e isocromossomo do braço longo do cromossomo 21. Mielograma e imunofenotipagem 03/07/2013: medula com 50,4% de células da série eritrocíticas predominantemente imaturas e 21,6% de blastos mielóides. **Conclusão:** As alterações cromossômicas presentes nessa paciente são encontradas tanto nas síndromes mielodisplásicas quanto nas eritroleucemias. Embora não haja alterações cromossômicas específicas nas eritroleucemias, as -5/del e -7/del (presentes neste), além da trissomia do cromossomo 8, são as alterações citogenéticas que se observam com maior frequência. A presença de anormalidades citogenéticas complexas é a única variável independente estatisticamente significativa que afeta negativamente a sobrevida no grupo de pacientes com eritroleucemia. A rápida modificação do aspecto morfológico da medula óssea que iniciou como uma síndrome mielodisplásica com apenas 5% de proeritroblastos e sem blastos mielóides mostra necessidade de encontrar um marcador biológico que distinga essas duas entidades hematológicas para instituição de terapia adequada.

Referências:

1. WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 2008, 4th ed., p. 93.
2. Wintrobe's Clinical Hematology, 10th ed., v. 2, p. 2287-8.

290. ACHADOS CITOGENÉTICOS COM VALOR PROGNÓSTICO EM PORTADORES DE LEUCEMIA LINFOCÍTICA AGUDA NO AMAZONAS

Souza ISN, Carminé F, Santos AMFD, Brasil AMV, Weber SS

Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brasil

Introdução: A leucemia linfóide aguda (LLA) é uma neoplasia maligna resultante da proliferação clonal e do acúmulo de linfoblastos na medula óssea. É a neoplasia mais frequente na infância, a qual corresponde a 30-35% dos casos nesse segmento. A citomorfologia, a imunofenotipagem e a citogenética compõem a tríade clássica da abordagem multifacetada indispensável ao diagnóstico das leucemias linfóides agudas. Atualmente, a análise citogenética tem sido considerada um instrumento de grande importância para determinação do fator prognóstico nas leucemias. **Objetivo:** Analisar as alterações citogenéticas com relevância prognóstica em portadores de LLA no Hemocentro do Amazonas (HEMOAM). **Material e métodos:** Estudo retrospectivo observacional dos resultados dos cariótipos analisados no Laboratório de Citogenética do HEMOAM de janeiro de 2013 a julho de 2014. Foram selecionados 52 cariótipos com diagnóstico de LLA, 55,8% (29/52) pacientes do sexo masculino e 44,2% (23/52) do feminino. **Resultados:** A análise citogenética revelou 30,8% (16/52) de cariótipos normais, o que indica um melhor prognóstico, com sobrevida em cinco anos de 90%. Entre as alterações consideradas favoráveis está a hiperdiploidia (trissomias dos cromossomos 4, 6, 10, 14, 17, 18, 20, 21 e X). As principais alterações descritas como desfavoráveis, ou de mau prognóstico, são: hipodiploidia, t(9;22), t(8;14) e t(1;19). Nossos dados mostram que 30,8% (16/52) dos pacientes apresentam algum tipo de alteração em seu cariótipo. Entre essas alterações, 62,5% (10/16) apresentaram hiperdiploidia, enquanto 6,25% (1/10) hipodiploidia, o que caracteriza bom e mau prognóstico, respectivamente. O índice mitótico nulo esteve presente em 20 dos 52 pacientes (38,5%). Entre os 32 pacientes em que o cariótipo foi obtido, 50% (16/32) apresentaram características que indicam um bom prognóstico, 12,5% (4/32) foram inconclusivos e 37,5% (12/32) obtiveram características que indicam mau prognóstico. Chamamos a atenção para o achado de dois cariótipos de mau prognóstico nos pacientes com LLA selecionados neste estudo, um cariótipo com t(1;19)(q23;p13) e outro com t(4;11)(q21;q23). **Conclusão:** A frequência de alterações cromossômicas se assemelha às descritas na literatura. Este estudo chama a atenção para a importância das análises citogenéticas no acompanhamento dos pacientes com neoplasias hematológicas, que permitindo uma estratificação de acordo com o prognóstico e a evolução da doença.

291. PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE SNP ARRAY PARA A DETECÇÃO DE ANORMALIDADES GENÉTICO-MOLECULARES EM LMA E SMD

Noronha TR^a, Rohr SS^a, Rodrigues MM^a, Chauffaille MLLF^{a,b}

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

^b Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O SNP array (SNPa) é um tipo de microarranjo de DNA usado para detectar polimorfismos. SNP é a variação de um único nucleotídeo em uma sequência de DNA e é o mais frequente tipo de variação no genoma. Milhões de SNPs já foram identificados e servem como marcador genotípico. O SNPa tem sido usado na genética do câncer por causa da sensibilidade de detecção de perda de heterozigose de cópia neutra (CN-LOH) e variação no número de cópias (CNV). CN-LOH ocorre quando duas cópias de um cromossomo ou região cromossômica estão presentes, mas ambas foram herdadas do mesmo progenitor, e representa um importante mecanismo, pelo qual pontos de mutação ou outras microlesões podem ser firmadas em um estado de homozigose. CNV é um segmento de DNA com pelo menos 1 kb de tamanho, que varia em número de cópias, ou seja, ganho ou perda de material genético. Entre as neoplasias hematológicas, as LMA e SMD são modelos interessantes para a investigação por SNPa de novas alterações moleculares com implicações para a patogênese dessas doenças. Isso é evidenciado pela falta de anormalidades citogenéticas em parte dos casos de LMA e de SMD e pela dificuldade geral de testes moleculares que podem ser usados para detectar tais anormalidades. **Objetivo:** Padronizar a técnica de SNPa e estabelecer as similaridades e diferenças entre seus resultados e os do carióti-

po. **Material e métodos:** Foram estudados 25 pacientes diagnosticados com LMA (n = 22) e SMD (n = 3). O cariótipo por banda G foi feito de forma habitual e o SNP (Cytoscan HD - Affymetrix) foi feito a partir do DNA extraído de células mononucleares de medula óssea (MO) e células bucais (CB). **Resultados:** A média de idade dos pacientes foi de 54 anos e a mediana 55, variação de 28 a 93. Deles, 12 (48%) eram do gênero masculino e 13 (52%) do feminino. Na comparação do cariótipo com SNP dos 25 casos, 10 apresentaram cariótipo alterado (40%), 11 normal (44%) e quatro sem metáfases (16%). Em relação ao SNP da MO, 17 apresentaram SNP com alteração (68%) e oito sem alterações (32%). Foi possível detectar 17 alterações pelo cariótipo (deleção/perdas: oito, trissomia/ganhos: sete e translocações: duas) e pelo SNP 42 alterações (perdas: 17, ganhos: 16 e CN-LOH: nove). Pelo fato de ter-se feito o SNP do DNA das CB, ele era a representação do genoma constitucional do indivíduo. Assim, alterações observadas na MO e não encontradas nas CB eram indicativas de anomalias adquiridas e foram consideradas para avaliação. O SNP tem a vantagem de detectar alterações genômicas independentemente do crescimento celular e identificar CN-LOH, ampliações e deleções submicroscópicas, que não são detectadas pelo cariótipo. Por outro lado, o SNP não demonstra translocações balanceadas e poliploidia. Isso demonstra que a redundância de exames, cariótipo e SNP é benéfica para ampliar a detecção de alterações genéticas. Portanto, favorece a ampla e indistinta caracterização da doença. **Conclusão:** Foi possível padronizar a técnica de SNP na LMA/SMD e compará-la com as anomalias observadas pelo cariótipo. Foi possível confirmar que se trata de ferramenta confiável e sensível para detecção de alterações submicroscópicas e CN-LOH. O SNP também ofereceu um novo conjunto de anomalias que merecem ser investigadas em novos estudos.

292. CARACTERIZAÇÃO DAS MUTAÇÕES EM NPM1, FLT3 E IDH1 EM PACIENTES ADULTOS COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Cruz NG, Ribeiro AFT, Fagundes EM, Glória ABF, Assumpção JG, Santos SME, Braga F, Xavier SG, Rezende SM

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: Nos pacientes adultos com LMA e cariótipo normal, a estratificação de risco, que orienta a seleção do tratamento mais apropriado para a doença, é um desafio. Nesse grupo, mutações nos genes NPM1 e IDH1 têm sido analisadas como fatores preditivos de prognóstico. **Objetivo:** Investigar a frequência dessas mutações em pacientes com LMA e relacioná-las com as suas características demográficas, clínicas e biológicas. **Material e métodos:** Foram analisados retrospectivamente 149 pacientes adultos com LMA primária e secundária diagnosticados no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG entre abril de 2004 e março de 2013. Os pacientes apresentaram mediana de idade de 49 anos (18 a 84) e 50,3% (n = 75) eram mulheres. **Resultados:** Em 113 casos (75,8%), a LMA foi classificada como primária, e em 36 (24,2%), como secundária. A mediana do número de leucócitos foi de 21,5 (0,5 a 380,2) x 10⁹/L, e de blastos foi de 11,0 (0 a 319,4) x 10⁹/L. A enzima LDH encontrava-se aumentada em 104/127 (81,9%) pacientes e era mais de duas vezes maior do que o limite superior do intervalo de referência (> 1.236 UI/μL) em 61/127 (48%). O marcador CD34 foi positivo em 52/95 (54,7%) pacientes. Onze de 119 pacientes (9,2%) apresentaram cariótipo favorável, 79/119 (66,4%) intermediário, 29/119 (24,4%) desfavorável e, em 30/149 (20,1%), não foi possível fazer essa análise. A DIT-FLT3 foi detectada em 20/144 (13,9%) pacientes. As mutações em NPM1 e a mutação IDH1(R132) foram detectadas em 31/144 (21,5%) e 7/114 (6,1%) pacientes, respectivamente. No grupo com cariótipo normal, essas mutações foram observadas em 9/56 (16,1%), 18/55 (32,7%) e 5/46 (10,9%) pacientes, respectivamente. Houve associação entre as mutações em NPM1 e classificação de risco intermediária (p = 0,02), presença de cariótipo normal (p < 0,01), ausência de marcador CD34 (p < 0,01), número aumentado de leucócitos (p < 0,01), blastos no sangue periférico (p < 0,01), enzima LDH sérica > 618 UI/μL (p = 0,01) e DIT-FLT3 (p = 0,04). Essas associações não foram observadas para a mutação IDH1(R132). **Conclusão:** As mutações em NPM1 parecem ser menos frequentes em nossa população, enquanto a mutação IDH1(R132) apresentou frequência semelhante à descrita para a população branca. As mutações em NPM1 estiveram associadas a fatores prognósticos em pacientes adultos com LMA, tais como maior número de leucócitos e de blastos ao diagnóstico, risco citogenético intermediário, cariótipo normal e DIT-FLT3.

293. LLA B COM T(5;14) E HIPEREOSINOFILIA AO DIAGNÓSTICO – RELATO DE CASO

Paul P, Benevides TCL, Fernandes EMSA, Oliveira LC, Assunção PM, Moura MS, Duarte BKL, Pinheiro VRP, Lorand-Metze I, Pagnano KBB

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

Introdução: Leucemia linfoblástica aguda B (LLA B) com hipereosinofilia é entidade clínico-patológica rara, corresponde a menos de 1% das LLAs. Comumente relacionada a alterações citogenéticas, atinge predominantemente crianças. **Objetivo:** Relatar caso de LLA B com t(5;14) e hipereosinofilia ao diagnóstico. **Relato de caso:** Paciente feminina, 16 anos, sem comorbidades prévias, com história de três semanas de febre vespertina, astenia, perda ponderal, dor óssea e queda do estado geral. Ao exame físico, mucosas hipocoradas, linfonodos cervicais palpáveis, com maior diâmetro de 2 cm e hepatoesplenomegalia discreta. Exames complementares: hemograma: leucócitos 86.230/mm³, 4% blastos, 85% (73.295/mm³) de eosinófilos maduros, sem atipias; anemia discreta normocrômica e normocítica (Hb 11,5 g/dL) e plaquetas 194.000/mm³. O aspirado da medula óssea mostrou aumento moderado da celularidade, com 70% de linfoblastos, 20% de eosinófilos, 5% de neutrófilos e 3% de linfócitos maduros. Biópsia de medula óssea mostrou infiltração medular maciça por células imaturas, com trabéculas ósseas com intenso remodelamento ósseo e atividade osteoclástica. Imunofenotipagem de medula óssea: 80,5% de blastos, fenótipo CD45 intermediário, CD34, CD19, cCD79a, CD10, CD38, nTdT positivos, CD20, cIgM e CD66 fracos e CD3, MPO, cCD3, CD7, IgM, CD117, CD33 e imunoglobulinas de membrana (cadeia leve kappa e lambda) negativos. Cariótipo de medula óssea: 46, XX, t(5;14)(q32;q31) e de sangue periférico, 46 XX. Estudos moleculares: mutação V617F JAK2 ausente, rearranjo BCR-ABL por PCR Multiplex e Fish negativos e pesquisa do rearranjo FIP1/PDGRFA negativa. Não apresentava alterações hepáticas, renais ou cardíacas. Feitos exames protoparasitológicos seriados, exame a fresco de fezes e pesquisa negativa para fungos e parasitas oportunistas. Diagnóstico final: LLA B de alto risco com t(5;14)(q32;q31). Foi tratada com o protocolo quimioterápico GBTLI-99. No mielograma de reavaliação nos dias 14 e 28 da indução apresentou normalização da contagem de eosinófilos e desaparecimento dos blastos. Durante o tratamento evoluiu com insuficiência cardíaca congestiva grave, com evolução para óbito, em remissão da LLA. **Discussão:** LLA B com hipereosinofilia é subtipo raro e frequentemente associado a translocações cromossômicas, das quais a mais comum é t(5;14)(q32;q31). Acredita-se que predisponha à justaposição do gene da imunoglobulina de cadeia pesada IgH a proto-oncogenes como *c-myc* e *bcl-2* e resulte em expressão gênica aberrante. Os eosinófilos não têm natureza clonal, explicam a dissociação citogenética entre o sangue periférico (predomínio da eosinofilia) e a medula óssea (predomínio dos blastos). Acredita-se que a hipereosinofilia confere pior prognóstico, embora a casuística seja muito pequena para afirmar. A insuficiência cardíaca apresentada pela paciente pode ser decorrente de infiltração eosinofílica. **Conclusão:** A presença de hipereosinofilia em sangue periférico deve ser investigada sistematicamente. Além da exclusão de patologias parasitárias e alérgicas, que são as causas mais comuns, deve-se fazer o diagnóstico diferencial com diversas neoplasias hematológicas, tais como neoplasias mieloproliferativas crônicas, linfoma de Hodgkin, linfomas T e LLA. As análises citogenética e moleculares são fundamentais para o diagnóstico etiológico.

294. A IMPORTÂNCIA DA IMUNOFENOTIPAGEM POR CITOMETRIA DE FLUXO PARA A IDENTIFICAÇÃO DE LEUCEMIAS DE FENÓTIPO MISTO – RELATO DE CASO

Rudolf-Oliveira RCM^a, Cardoso CC^a, Santos IM^a, Delgado TSF^a, Steffenello-Durigon G^a, Maluf SW^a, Matioli C^a, Burnatt G^a, Orfao A^b, Santos-Silva MC^a

^a Hospital Universitário, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

^b Universidad de Salamanca, Salamanca, Espanha

Introdução: Na maioria dos casos, as leucemias agudas (LAs) podem ser classificadas com base na linhagem das células leucêmicas (mieloide ou linfóide B ou T). No entanto, há casos raros em que os blastos mostram diferenciação a mais de uma linhagem, como nas leucemias agudas de fenótipo misto (LAFM) bilineais, que apresentam populações distintas de blastos de mais de uma linhagem. As LAFM B/mielóides compreendem

cerca de 1% de todos os casos de LAs. Nesse subtipo de LAs, na maioria dos casos, os blastos apresentam-se como populações dimórficas e assemelham-se a linfoblastos e a mieloblastos, ou como uma única população que se assemelha a leucemia linfoblástica aguda. Assim, é essencial o uso da imunofenotipagem (IMF) por citometria de fluxo (CF) para definir a correta linhagem de cada subpopulação blástica e classificar a LAFM. **Objetivo:** Relatar um caso cuja IMF por CF tem papel fundamental para a identificação do subtipo de LAFM. **Relato de caso:** Paciente gênero masculino, 55 anos, branco, em acompanhamento havia quatro anos com hematologista por causa de plaquetopenia, anemia e hiperferritine-mia. Ao ser admitido na emergência do HU-UFSC referia dor de moderada intensidade em hipocôndrio esquerdo havia 10 dias, com pioria aos esforços e com inspiração profunda. Relatou também astenia e emagrecimento de 2 kg na semana anterior. Ao exame físico constatou-se esplenomegalia palpável, e o hemograma evidenciou anemia (Hb 9,1 g/dL), plaquetopenia (35.000/mm³), leucocitose (68.000/mm³) e 82% de blastos. O mielograma evidenciou medula óssea (MO) intensamente hiperplasmática, com presença de 80,4% de blastos com evidente alteração de tamanho (células pequenas, médias e grandes), citoplasma escasso e basofílico, agranular, com núcleo globoso e nucléolo inconspícuo. A imunofenotipagem do sangue periférico revelou 82,8% de blastos (CD34+, CD45+) subdivididos em três subpopulações: 1) 39,7% de blastos com comprometimento com a linhagem linfóide B (CD19+, CD79a+, CD22+, CD20-/-, TdT+); 2) 41,4% de blastos com comprometimento com a células dendríticas plasmocitoides (CD123+, CD36+, HLA-DR++) e 3) 1,7% com comprometimento com a série neutrofílica (MPO+, CD15/CD65+, CD33+, CD117+) compatíveis com leucemia aguda de fenótipo misto B/mielóide. Por biologia molecular não foram detectadas as translocações t(8;21) e t(9;22)(p190 e 210) e a mutação FLT3 (DIT e D835). Além disso, não foram observadas alterações no cariótipo (46, XY). Após o término do tratamento (HIPER-CVAD), na avaliação da MO foi observada remissão morfológica e fenotípica e o paciente foi encaminhado para transplante de MO, pois foi encontrado doador aparentado compatível. **Conclusão:** Esse caso demonstrou que o uso da IMF por CF no diagnóstico das leucemias agudas é imprescindível para a subclassificação das LAFM, cuja identificação apenas pelos critérios morfológicos e citoquímicos não é possível. Isso demonstra a importância da imunofenotipagem como método de diagnóstico, pois permite a definição correta das subpopulações blásticas de forma rápida, o que possibilita o início do tratamento de forma imediata.

295. USO DA CITOMETRIA DE FLUXO NO AUXÍLIO DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITOIDES – RELATO DE CASO

Farias MG, Spagnol F, Contin LCZ, Rigoni LDC, Ottoni EML, Bittar CM, Daudt LE, Alegretti AP

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

Introdução: A leucemia de células dendríticas plasmocitoides é uma neoplasia hematológica rara, que representa menos de 1% dos casos de leucemia aguda. Clinicamente, apesar da apresentação inicial indolente com comprometimento cutâneo, é caracterizada por comportamento agressivo com rápida disseminação sistêmica. É uma patologia de difícil diagnóstico, embora o estudo morfológico sugira características pseudo-linfocíticas. A imunofenotipagem por citometria de fluxo identifica células da linhagem dendrítica com fraca expressão de CD45 e negativas para CD34, com coexpressão de CD4/CD56 e presença HLADR/CD123, associada à ausência de marcadores específicos das linhagens mielóide, linfóides B, T e células NK. Preconizam-se, como tratamento, protocolos de leucemia linfóide aguda associados a transplante alogênico de células-tronco. **Objetivo:** Relatar o caso de uso da citometria de fluxo para o auxílio diagnóstico de leucemia de células dendríticas plasmocitoides. **Relato de caso:** Paciente feminina, 51 anos, previamente hígida, apresenta, em abril de 2013, lesões cutâneas com três meses de evolução, aumento progressivo, sem diagnóstico definido e sem resposta clínica a tratamentos tópicos. Feita biópsia cutânea com diagnóstico de células de aspecto blástico, com positividade para CD45, CD123, TCL1 associado à negatividade de CD3 e CD20 no estudo imuno-histoquímico, o que sugeria neoplasia blástica de células plasmocitárias dendríticas. Investigação complementar de medula óssea não demonstrou envolvimento medular. Feito tratamento Protocolo 7+3 (indução, reindução e três consolidações). Apresentou recidiva cutânea três meses após término de manutenção

com citarabina em altas doses, com envolvimento do sistema nervoso central. O estudo de mielograma identificou 80% de células imaturas com aspecto de linfoblastos, hemograma dentro da normalidade e estudo anatomopatológico evidenciou infiltração difusa por células blásticas de origem linfóide. O estudo de imunofenotipagem apresentou 62% de células com expressão de CD4, HLADR, CD38, CD56 fraco e heterogêneo, CD123 forte e homogêneo e CD45 fraco, sem expressão de CD34, de marcadores linfóides B (cCD79a, CD19), linfóides T (CD7, CD3, CD5, CD2), linfóides NK (CD11b, CD16) e mielóides (cMPO, CD13, CD15, CD64, CD65), o que sugeria leucemia de células dendríticas plasmocitoides. Paciente segue tratamento Protocolo HyperCVAD com plano de transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas. **Conclusão:** Este estudo destaca a importância da imunofenotipagem no auxílio diagnóstico de leucemia de células dendríticas plasmocitoides. Ressalta, também, a necessidade de um amplo painel de anticorpos para a sua caracterização e considera que a expressão de CD4/CD56 também está presente em outras entidades.

296. OCORRÊNCIA DE CARDIOTOXICIDADE SECUNDÁRIA A ANTRACICLINAS EM PACIENTE COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA (LMA) NO PERÍODO DE 2007 A 2013 NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE (HCPA)

Sarturi BF, Spindler BM, Contin LCZ, Paiva MF, Burin MM, Soares TB, Weber CS, Bittencourt RI, Daudt LE

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

Introdução: As antraciclina são potentes fármacos antitumorais usados no tratamento da leucemia mielóide aguda (LMA). Entretanto, são os quimioterápicos com maior potencial de cardiotoxicidade, acarretam prejuízo na sobrevida e na qualidade de vida de pacientes com LMA e impossibilitam, em muitos casos, o adequado tratamento com intenção curativa. **Objetivo:** Descrever a incidência de cardiotoxicidade por antraciclina em LMA acompanhados no HCPA e correlacionar com os desfechos clínicos: sobrevida/mortalidade/recuperação de função ventricular. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo observacional por meio de revisão de prontuários de pacientes diagnosticados com LMA entre 01/01/2007 e 31/12/2013 que desenvolveram cardiotoxicidade por antraciclina durante protocolo quimioterápico. Cardiotoxicidade foi definida como sintomas clínicos de insuficiência cardíaca e/ou diminuição da fração de ejeção ventricular (FEVE), conforme os seguintes critérios: redução assintomática da FEVE entre 10% e 20%; redução da FEVE abaixo de 20% ou abaixo do normal; insuficiência cardíaca sintomática. **Resultados:** Dos 125 pacientes com LMA, 10 desenvolveram cardiotoxicidade (8%). A idade média foi de 43,4 anos (± 15,4). A incidência de sexos foi igual. Dois pacientes apresentaram cardiotoxicidade no primeiro mês de tratamento. Três recuperaram a função ventricular com uso de IECA e β-bloqueador. Seis recaíram, mas dois alcançaram segunda remissão completa e ambos recuperaram função ventricular. As medianas de sobrevida livre de doença e sobrevida global foram de 20 meses (2-85 meses) e 21,5 meses (0-90 meses), respectivamente. Três pacientes não recuperaram função cardíaca apesar das medicações e entraram em tratamento paliativo. Cinco (50%) foram a óbito, cuja principal causa foi a LMA. **Conclusão:** A incidência de cardiotoxicidade por antraciclina (8%) foi condizente com a literatura (5-30%) e os desfechos também foram equiparáveis à literatura mundial.

297. IN VITRO CYTOTOXIC EFFECT OF E-2(3-BROMOBENZYLIDENE)-1-TETRALONE IN HUMAN ACUTE LEUKEMIA CELLS AND MOLECULAR PROPERTIES

Santos-Bubniak L, Gaspar PC, Chiaradia-Delatorre LD, Queiroz GS, Bigolin A, Nunes RJ, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

Introduction: Acute leukemia results from a series of mutational events that occur during the complex process of hematopoiesis. Despite the huge efforts to implement novel chemotherapeutic strategies for the treatment of different types of leukemia, only a few patients achieve complete remission, and many relapse or die, regardless of the type or duration of post-remission therapy. Consequently, there is an urgent need to find unexplored classes of substances with selective action against leukemia cells. Many chalcone derivatives have been assessed for their

effect on proliferation, cytotoxic potential, and apoptosis in human leukemia cells. Among the tested derivatives, the tetralones arouse special interest in presenting a significant effect on down-regulation of cancer cell proliferation and viability in two different leukemia cell lines (K562, Jurkat). **Objective:** This study aimed at exploring the selective cell-death inducing potential, investigate the apoptotic effect and, through *in silico* assay, predict the molecular properties and behavior of compound E-2(3-bromobenzylidene)-1-tetralone. **Material and methods:** The cytotoxic effects of the tested compound were studied by using colorimetric microculture assay with the MTT endpoint. In this assay, the amount of MTT reduced to formazan is proportional to the number of viable cells. K562 and Jurkat cells (5×10^4 and 1×10^5 cells/well) were incubated in the presence of different concentrations of compound (10 – 100 μ M) for 24, 48, and 72 hours, in order to calculate the IC_{50} (50% inhibitory concentration) values. To study the cell death mechanism the cell cycle, apoptosis induction, mitochondrial potential, and expression of proteins Bax, Bcl-2, and caspase-3 were evaluated. The analysis also evaluated cytotoxicity to normal cells (L929, MRC5, 3T3), other leukemia cells (HL-60, U937, Kasumi, CEM), or other non-hematological malignancies (SCC-25, A549, HT-29, MDA-MB-231) to determine the selectivity index. The parameters for drug-likeness were evaluated according to the Lipinski's rule-of-five, using the Supercomputational Biology-HT Delhi and TPSA values from the Molinspiration online property calculator tool kit. Topological polar surface area was used to calculate the percentage of absorption. *In vitro* %HIA, Caco2, MDCK cell permeability, plasma protein binding, and blood-brain barrier penetration values were obtained from the ADME calculator. **Results and discussion:** The changes in mitochondrial potential, positive annexin V, activity of Bcl-2, Bax, and caspase-3 analyses indicated that the cytotoxic effect mediated by E-2(3-bromobenzylidene)-1-tetralone are due to induction of apoptotic cell death. Interestingly, the cytotoxic effect was cell type-specific and preferentially targeted the K562 and Jurkat cells; in comparison, normal cells, others leukemia cells, and non-hematological malignancies were less affected by the treatment. Based on computational prediction of molecular and pharmacokinetic properties, it was found that the E-2(3-bromobenzylidene)-1-tetralone has good oral absorption. **Conclusion:** Altogether, these results indicate a potential drug candidate, with intriguing differential toxicity obeying Lipinski's rule-of-five.

298. INTERCORRÊNCIAS NEUROLÓGICAS EM PACIENTES ADULTOS PORTADORES DE LEUCEMIAS AGUDAS

Resende LSR, Monteiro FF, Yasuda AG, Costa CM, Santos DF, Janjacom G, Domingues MC, Niéro-Melo L, Bazan R, Resende LAL

Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Introdução: É documentada na literatura a associação de doenças hematológicas malignas com complicações neurológicas variadas. Tais complicações, geralmente muito graves, demandam atendimento multidisciplinar imediato, que pode ser decisivo para a sobrevivência do paciente ou para a instalação de sequelas temporárias/permanentes. **Objetivo:** Estudar as complicações neurológicas observadas em pacientes adultos diagnosticados com leucemia aguda (LA) mieloide, linfóide ou bifenotípica internados num hospital universitário público durante oito anos. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo clínico, laboratorial, de imagens e de traçados diagnósticos de pacientes adultos envolvidos na interdisciplinaridade Hematologia-Neurologia no Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP) que cursaram com complicações neurológicas durante a evolução de neoplasias hematológicas, por meio da análise de dados das respectivas internações pela hematologia, de 2005 a 2012. **Resultados:** No período estudado, 71% dos pacientes internados pela hematologia eram portadores de doenças onco-hematológicas (368/519 indivíduos) e 28,8% desses apresentaram intercorrências neurológicas (106/368 indivíduos), que totalizaram 125 episódios. Entre os 368 portadores de neoplasias, havia 79 com leucemia mieloide aguda (LMA), 12 com leucemia linfóide aguda (LLA) e um com leucemia aguda bifenotípica. Apresentaram complicações neurológicas centrais, que totalizaram 30 episódios (32,6% dos pacientes com LA; 30/92), 30,4% dos pacientes com LMA (24/79), 41,7% (5/12) com LLA, bem como o portador de LA bifenotípica. As LMA evidenciaram quase exclusivamente complicações que envolveram o encefalo e/ou sentido da visão. Eventos hemorrágicos vitreos, retinianos, intraparenquimatosos, meníngeos ou mistos corresponderam a

mais da metade das intercorrências. Infiltração líquórica ocorreu em apenas um caso de LMA mielomonocítica (FAB-M4), também com tumor mieloide extramedular paravertebral e compressão mielorradiculillar concomitantes. Nas LLA, todas as intercorrências neurológicas foram encefálicas e 80% corresponderam a infiltrações líquóricas. O caso com LA bifenotípica apresentou manifestações neurológicas centrais complexas após infusão de quimioterapia endovenosa. **Discussão:** As intercorrências neurológicas centrais observadas nas LA podem decorrer de hemorragias por insuficiência de medula óssea, de infiltrações líquóricas, de tumorações intraparenquimatosas, de hiperleucocitose com leucostase, de massas paravertebrais, entre outras. Infecções no SNC, em decorrência de imunodeficiência, bem como manifestações de disfunção imune, e distúrbios relacionados ao tratamento quimioterápico, radioterápico ou de suporte (antibióticos, anti-heméticos, analgésicos) também não são incomuns. Muitas dessas intercorrências são potencialmente letais ou deixam sequelas permanentes. É importante reconhecê-las e tratá-las precocemente e, quando possível, instituir profilaxia. **Conclusão:** Um grande percentual (32,6%) de pacientes admitidos no nosso serviço com leucemias agudas desenvolveu intercorrências neurológicas e observaram-se padrões diferentes de complicações para os diferentes grupos.

299. DETECÇÃO DE DELEÇÕES EM IKZF1 EM PACIENTES COM LLA-B ATRAVÉS DE MLPA E ACGH/SNPS

Rodrigues JO^a, Campos CB^a, Melo CPS^a, Silva PG^a, Neto JCA^b, Pianovski MAD^c, Carbone EK^d, Ferreira ACS^e, Assumpção JG^a

^a Biocod Biotecnologia Ltda., Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Hospital Santa Casa de Misericórdia, Belo Horizonte, MG, Brasil

^c Hospital Erasto Gaertner, Curitiba, PR, Brasil

^d Hospital Pequeno Príncipe, Curitiba, PR, Brasil

^e Setor de Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: O gene Ikaros (IKZF1) localiza-se no cromossomo 7 (7p12.2) e codifica uma proteína da família dedos de zinco. É considerado regulador mestre de diferenciação de linfócitos. Deleções em IKZF1 são comuns em leucemia linfoblástica aguda de linhagem B (LLA-B), especialmente nos adultos portadores do gene de fusão BCR-ABL. Essas deleções foram associadas com prognóstico ruim e constituem um marcador genético importante na LLA-B. **Objetivo:** Estudar deleções no gene IKZF1 com diferentes metodologias. **Material e métodos:** Foram avaliados 34 pacientes com LLA-B (25 crianças e nove adultos), 10 deles positivos para BCR-ABL. Para detectar a deleção, foi usado kit comercial de Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA); a confirmação dos resultados em 11 pacientes foi feita com microarranjos de aCGH/SNPs de 180K (Agilent Technologies). **Resultados:** Os dados do MLPA mostraram que 10 pacientes (29,4%) eram portadores de deleções IKZF1 e que 60% dos pacientes BCR-ABL positivos tinham a deleção. A extensão da deleção variou. As alterações mais frequentes envolviam os exons 1 a 7 (30%) ou os exons 4 a 7 (30%). Em apenas um caso houve deleção do gene inteiro, condizente com a perda de um braço curto do cromossomo 7 observada no cariótipo e presença de um isocromossomo do braço longo [i (7) (q 1 0)]. **Conclusão:** Os resultados do aCGH confirmaram os do MLPA em todos os casos analisados.

300. ERITROLEUCEMIA EM ADOLESCENTE COM T(6;9)

Nucci FM, Apa AG, Mercante D, Orlando EP, Oviedo CAO, Policarpo F, Lopez LJD, Schau R, Monnerat A, Praxedes MK

Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Introdução: A eritroleucemia é uma forma rara, responsável por menos de 5% dos casos das leucemias mieloides agudas (LMA). É uma doença que afeta principalmente os adultos com mais de 50 anos. Existem dois subtipos, a leucemia eritroide (eritroide/mieloide) e a leucemia eritroide pura, extremamente rara. A eritroleucemia pode ocorrer a partir da transformação de outras doenças hematológicas, como as síndromes mielodisplásicas (SMD) e as doenças mieloproliferativas crônicas (DMPC), após exposição a substâncias mielotóxicas, como o benzeno, ou secundariamente ao uso prévio de quimioterapia, radioterapia e imu-

nossupressão. É necessário um diagnóstico diferencial com as SMD e com outras condições que resultam em proliferação eritroide na medula óssea, como defeitos congênitos (síndrome de Fanconi, anemia hemolítica, anemia congênita diseritropoiética), anemia megaloblástica, intoxicação por metal ou álcool, infecção pelo HIV, hemólise autoimune, uso de quimioterápicos e a terapia com eritropoietina. O cariótipo complexo está frequentemente associado a esse subtipo de leucemia. A t(6;9)(p22;q34) é uma translocação rara, encontrada em cerca de 1% das LMA, mais frequentemente observada nos pacientes jovens e nas LMA de novo, LMA associada a alterações displásicas da medula óssea, LMA secundária a quimioterapia e leucemias com basofilia. Também foi descrita em associação com SMD, leucemia mieloide crônica e mielofibrose aguda. A t(6;9) resulta na formação do gen de fusão DEK-NUP214 (DEK-CAN no passado), que parece acometer uma célula progenitora muito precoce, com alta frequência de mutação do gen FTL3, que define um subgrupo de LMA de mau prognóstico. **Relato do caso:** Paciente masculino, de 18 anos, foi atendido no ambulatório de hematologia com queixa de cansaço e fraqueza. O hemograma evidenciou anemia (Hb 4,3 mg/dL e hematócrito 13,6%), trombocitopenia (86.000/mm³) e leucocitose (11.700/mm³). O exame físico mostrava intensa palidez cutâneo-mucosa e ausência de visceromegalias. O aspirado e a biópsia de medula óssea mostraram marcada hiperplasia eritroide, com megaloblastose e diseritropoese e mais de 20% de mieloblastos. A imunofenotipagem mostrou glicoforina positiva > 50% e mieloperoxidase positiva > 20% e o cariótipo observado foi 46xy t(6;9)(p23;q34)17. O paciente foi tratado com o esquema clássico de quimioterapia de indução (7+3) com daunorrubicina e ARA-C e não obteve remissão completa. Recebeu QT para reindução, com HDAC (alta dose de Ara-C). Apresentou aplasia pós-QT prolongada e aspergilose pulmonar, que não respondeu à terapia antifúngica e evoluiu para o óbito. **Conclusão:** Apresentamos o caso de um paciente jovem, diagnosticado com um subtipo morfológico pouco frequente de LMA, a eritroleucemia, associada a uma translocação igualmente rara, a t(6;9), ambas condições de mau prognóstico e cuja refratariedade à QT e evolução para o óbito estão de acordo com os poucos casos relatados na literatura.

301. MINIMAL RESIDUAL DISEASE IN B CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA BY EIGHT COLORS IMMUNOPHENOTYPING: POTENTIAL DIAGNOSIS AND THERAPEUTIC IMPLICATIONS – CASE REPORT

Ikoma MRV^a, Joaquim AP^b, Penitenti M^a, Marques C^a, Conte JE^a, Souza MP^b, Matos ER^{b,c}, Francheschi FLS^b, Mauad MA^c, Couturato V^d

- ^a Laboratório de Citometria de Fluxo, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil
^b Serviço de Transplante de Medula Óssea, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil
^c Serviço de Hematologia, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil
^d Hemonúcleo Regional de Jaú, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

Introduction: Minimal residual disease (MRD) is a strong evaluation of treatment response in acute lymphoblastic leukemia (ALL). Although flow cytometry (MFC) has been one of most applicable methodology for this purpose, it is one to two logs less sensitive than PCR techniques. Eight colors immunophenotyping may become a powerful tool to enhance MRD sensibility by MFC. **Case report:** A 26-year-old black female was referred for a related hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in March 2014. She was diagnosed with B-precursor ALL without central nervous system infiltration. She had been treated in the origin service with seven cycles of HyperCVAD therapeutic protocol and persisted with 7.0% blasts in bone marrow aspirate at D33 of induction chemotherapy, according to the report. After five months, she was treated with Mito-FLAG, a chemotherapy salvage protocol. She was submitted to identical sibling donor allogeneic HSCT in April 2014. The conditioning regimen was myeloablative, consisting of Etoposide 50 mg/kg and total body irradiation (TBI) with 1,200 cGy. For DECH prophylaxis, the patient had taken cyclosporine and methotrexate. She did not have transplant related complications. Leukocyte engraftment occurred at day +20 after HSCT. At day +40 after HSCT, 0.28% MRD was detected by flow cytometry. The information of diagnosis immunophenotype was: CD 45 dim, CD 34+, and CD 10 negative B cell precursor ALL. One eight color tube of monoclonal

antibodies was used, which included maturation and anomalous markers: CD 81 FITC/ CD 66c+CD 123 PE/ CD34PerCPCy5.5/ CD 19 PECy7/ CD 10APC / CD 38 APC-H7/ CD 20 PB/CD 45 PO. 0.28% of Pro B ALL phenotype blast cells were detected. Another six color tube was added, which included backbone markers (CD 19 PECy7, CD 10 APC, CD 20 PB, CD 45 PO) and others markers that suggest molecular alterations: CD15+CD65 FITC and NG2 PE. The blast cells showed small size and complexity, expressed CD 45+ dim, CD19+, HLA-DR+, CD38++bright, CD 81++ bright, CD 15/ CD 65+ (72.5%), NG 2+ (55%) and had negativity for CD10, CD20, CD34, CD 66c+CD 123. The phenotype suggested presence of MLL gene that was confirmed by PCR analysis – MLL/AF4 t(4;11). Immunosuppressant therapy was discontinued to promote the graft *versus* leukemia (GVL) effect and avoid disease relapse. At day +100 after HSCT, another MRD study no longer detected pathological lymphoblast, with a sensitivity of 1 x 10⁴ blast cells by whole bone marrow sample. **Discussion:** This case illustrates the potential of MFC for the purpose of MRD, even if the initial phenotype is not entirely known. As previously published,^{1,2} some immunophenotypes can suggest the existence of associated molecular lesion. Also, this case exemplifies that there is a potential application of MDR by MFC for clinical intervention after HSCT.

References:

- Orfao A, Ortuño F, Santiago M, Lopez A, San Miguel J. Immunophenotyping of Acute Leukemias and Myelodysplastic Syndromes. *Cytometry A*. 2004;58A(1):62-71.
- Hrusak O, Porwit-MacDonald A. Antigen expression patterns reflecting genotype of acute leukemias. *Leukemia*, 2002,16(7):1233-58.

302. ESTUDO RETROSPECTIVO PARA COMPARAÇÃO DA CAPACIDADE DE DETECÇÃO DE CÉLULAS PATOLÓGICAS DE LINHAGEM HEMATOPOÉTICA EM LÍQUIDO CÉFALO RAQUIDIANO (LCR) POR CITOMETRIA DE FLUXO, UTILIZANDO-SE OU NÃO SOLUÇÃO ESTABILIZANTE

Marques C^a, Conte JE^a, Penitenti M^a, Simione AJ^b, Couturato VAR^b, Souza MP^b, Matos ER^{b,c}, Oliveira CT^d, Mauad MA^e, Ikoma MRV^a

- ^a Laboratório de Citometria de Fluxo, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil
^b Serviço de Transplante de Medula Óssea, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil
^c Serviço de Hematologia, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil
^d Serviço de Pediatria, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil
^e Hemonúcleo Regional de Jaú, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

Introdução: A CF é sensível para detecção de células neoplásicas em LCR, mas a estabilidade dessas amostras é pequena. O uso de soluções estabilizantes minimiza essas perdas celulares e aumenta o potencial de detecção de células patológicas nesse tipo de amostra. **Objetivo:** Comparar os resultados de amostras de LCR de pacientes portadores de neoplasias hematopoéticas com e sem estabilizante. **Material e métodos:** Foram avaliados os resultados de 656 amostras de LCR, de pacientes portadores de LLA (n = 498), LMA (n = 88), DLPC (n = 52), leucemia mista (n = 17) e S. Sézary (n = 1). Foram coletados 2 mL de LCR em EDTA₃ ou em EDTA/Transfix™ e imediatamente processadas, conforme descrito.^{1,2} Os painéis de anticorpos monoclonais (AcM) foram escolhidos de acordo com o fenótipo inicial da doença ou suspeita diagnóstica. Os citômetros de fluxo usados foram FACSCalibur (BD)™ 4 cores e FACSCanto II (BD)™ 8 cores; foram usados para aquisição de dados os **software** CellQuest Pro (BD)™ e FACSDiva (BD)™. Os dados foram analisados em **software** Infinicyt (Cytognos)™. Os grupos de amostras para comparação de resultados foram: 1º) 269 amostras colhidas em tubo de EDTA₃, incubadas com painéis de quatro cores (AcM); 2º) 224 amostras colhidas em EDTA/Transfix™, também incubadas com painéis de quatro cores; 3º) 163 amostras colhidas em EDTA/Transfix™, incubadas com painéis de oito cores (AcM). Para avaliação estatística foi usado o teste qui-quadrado pelo **software** SPSS (IBM)®. **Resultados:** No grupo 1 foram encontradas 29 (10,8%) amostras impróprias (viabilidade menor do que 50%), enquanto nos grupos 2 e 3 as impróprias foram 5 (2,2%) e 3 (1,8%), respectivamente. Houve significância estatística entre os grupos 2 e 3 em relação ao 1 (p < 0,001) quanto ao número de amostras impróprias para análise. Não houve diferença entre os grupos 2 e 3, colhidas em

Transfix™ ($p = 0,48$). Quanto ao número de amostras em que foram detectadas células patológicas, não houve diferença entre os três grupos: 52 (19,3%), 44 (19,6%) e 32 (19,5%), respectivamente, nos grupos 1, 2 e 3 ($p = 0,93$). Quanto às amostras com resultado negativo para células neoplásicas, os resultados observados foram 188 (69,9%) para o grupo 1, 175 (78,5%) para o grupo 2 e 122 (74,8%) para o grupo 3. Foi observada diferença entre eles ($p = 0,02$). **Conclusão:** O uso do estabilizante Transfix™ mostrou-se eficaz para avaliação de número maior de amostras de LCR em relação às amostras colhidas sem ele. **Conclusão:** Apesar de não se tratar de estudo comparativo duplo cego, os resultados sugerem que o uso do estabilizante possa melhorar a detecção de células neoplásicas de linhagem hematopoética em LCR.

Referências:

1. De Jongste AH, Jaco K, van den Broek PD, Broomains RA, Bromberg JE, Van Montfort KA, et al. Use of TransFix™ cerebrospinal fluid storage tubes prevents cellular loss and enhances flow cytometric detection of malignant hematological cells. *Cytometry B*. 2014;86B:272-9.
2. Nuckel H, Novotny JR, Noppeney R, Savidou I, Duhrsen U. Detection of malignant haematopoietic cells in the cerebrospinal fluid by cytology and flow cytometry. *Clin Lab Haematol*. 2006;28:22-9.
3. Kalina T, Flores-Montero J, Van der Velden VH, Martin-Ayuso M, Böttcher S, Ritgen M, et al. EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia*. 2012;26:1986-2010.

303. SEARCHING FOR A NEW CHEMOTHERAPEUTIC AGENT: SCREENING OF NEW SYNTHETIC CHALCONES WITH CYTOTOXIC POTENTIAL ON AML K562 CELLS

Maioral MF^a, Bodack CDN^a, Neuenfeldt PD^b, Berens J^b, Mazur KL^b, Chiaradia-Delatorre LD^b, Nunes RJ^b, Silva MCS^a

^a Laboratório de Oncologia Experimental e Hemopatias (LOEH), Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

^b Laboratório Estrutura e Atividade (LEAT), Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brazil

Background: Acute myeloid leukemia (AML) is a hematopoietic disorder characterized by a block in differentiation and uncontrolled proliferation of abnormal myeloid progenitors that accumulate in bone marrow and peripheral blood. Although chemotherapy results in high rates of remission, the majority of patients relapse and the overall five-year survival is only 40–45% in young patients and less than 10% in the elderly. In this context, chalcones are a set of molecules obtained from natural or synthetic sources that possess several important bioactivities, such as anti-oxidant, anti-angiogenic and, anti-tumor properties. **Aims:** Since studies have shown that chalcones and their derivatives have cytotoxic effect and potential application for the development of new drugs, the aim of this study was to investigate the effects of 71 new synthetic chalcones on the AML K562 cell line. The most promising compounds were tested in other acute leukemia models and in a normal cell line model in order to try to find a new compound with activity against leukemia cells and with little or no effect on normal cells. **Methods:** The screening of 15 synthetic chalcones derived aldehyde pyrene (PY series), 14 synthetic chalcones derived from acetophenoneanthracene (AN series), 12 synthetic chalcones derived from aldehyde and anthracene (KP series), 15 synthetic chalcones derived from acetophenone biphenyl (JE series), and 15 synthetic chalcones derived aldehyde biphenyl (JA series) was performed on K562 cells. K562 cells were cultured at a density of 5×10^4 and incubated with the 71 chalcones (100 μ M) for 24h. Cell viability was assessed by MTT assay. Optical density of the control group (cells with no treatment) was taken as 100% of cell viability. The results were mean \pm SEM of at least three independent experiments, $p < 0.05$ compared to control groups (ANOVA Bonferroni post-hoc test). The selected compounds were incubated with K562, Jurkat (ALL), and HL-60 (APL) at the concentrations of 1, 5, 10, 25, 50, and 100 μ M for 24, 48, and 72 hours to calculate the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}). The compounds were also incubated with L929 mouse fibroblast cell line in order to verify their cytotoxicity on normal cells. **Results:** When compared to the control group, 24 chalcones (PY6, PY14, and PY15 from the PY series; AN4, AN5, AN6, and AN8 from the AN series; KP12 from the KP series; JE11, JE13, JE16, and JE18 from the JE series; and 12 AN

compounds) showed a significant toxicity towards K562 cells. When the compounds were compared to each other, only JE16, JE8, JA3, and JA7 significantly reduced the cell viability; therefore, they were selected for further studies. The compounds were tested at different concentrations for 24, 48, and 72 hours on K562, Jurkat, and HL-60 cells. The IC_{50} obtained for JE16 and JE18 were considered too high, so these compounds were discarded. The IC_{50} for JA3 ranged from $3.21 \pm 0.51 \mu$ M to $36.62 \pm 1.56 \mu$ M, according to the time and cell type, and for JA7, it ranged from $3.23 \pm 0.50 \mu$ M to $31.76 \pm 1,50 \mu$ M. The two compounds showed no significant cytotoxicity towards L929 cells ($IC_{50} > 200 \mu$ M and selectivity index > 7 , considered to be high selectivity). **Conclusion:** The results obtained so far are very promising and further tests need to be performed, including apoptotic tests, so that the compounds JA3 and JA7 can become a prototype for the development of new anti-leukemia agents.

304. VALIDAÇÃO ENTRE CITÔMETROS DE FLUXO FACSCALIBUR (BD) E FACSCANTO II (BD) PARA AMOSTRAS DE NEOPLASIAS DE LINHAGEM HEMATOPOÉICA

Penitenti M^a, Conte JE^a, Marques C^a, Simone AJ^b, Couturato VAR^b, Mauad MA^c, Ikoma MRV^a

^a Laboratório de Citometria de Fluxo, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

^b Serviço de Transplante de Medula Óssea, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

^c Hemonúcleo Regional de Jaú, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

Introdução: Para a transição entre diferentes plataformas de citômetros de fluxo (CF) na avaliações de amostras biológicas, faz-se necessária a validação entre os diferentes aparelhos em uso em um mesmo laboratório, que implica importante controle de qualidade interno. O objetivo é garantir que os resultados obtidos sejam estatisticamente superponíveis, determinados pela reprodutibilidade dos testes nos instrumentos testados. **Objetivo:** Demonstrar a validação feita entre os CF FACSCalibur (BD)TM de quatro fluorescências e FACSCanto II (BD)TM plataforma 4-2-2 com amostras marcadas com anticorpos monoclonais (AcM) em quatro fluorocromos (FITC, PE, PerCP, APC), para verificação do índice de correlação entre os resultados obtidos nos dois CF. **Material e métodos:** Avaliadas 31 amostras de medula óssea de pacientes portadores de neoplasias hematológicas: leucemia mieloblástica aguda ($n = 11$), mielodisplasia ($n = 8$), leucemia linfoblástica aguda B ($n = 5$), mieloma múltiplo ($n = 4$) e leucemia linfocítica crônica ($n = 3$). Os painéis usados incluíram os seguintes AcM para **screening** e classificação de leucemias agudas e doenças linfoproliferativas crônicas (DLPC): FITC: CD2, CD7, CD10, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD19, CD22, CD36, CD38, CD58, CD61, CD71, CD8 + IgL, FMC-7, HLA-DR, IgM, Ig isotípica, cyBcl-2, cyCD3, cyMPO, cyIgL e cyIgM/Alexa Fluor: Ig isotípica e Zap-70/PE: CD7, CD11c, CD13, CD19, CD22, CD23, CD24, CD33, CD56, CD56 + IgK, CD64, CD66c, CD105, CD117, CD123, CD200, cy79a, cyIgK e NG2/PerCP: CD3, CD19, CD45 e CD4 + CD19/APC: sCD3, CD5, CD10, CD19, CD20, CD33, CD34, CD38 e CD5 + CD19. Na totalização da avaliação em dupla combinação de 58 AcM foram obtidas 2.732 análises gráficas em dot plots. As amostras foram as mesmas adquiridas em ambos os CF, as condições pré análises não variaram. Ambos os CF foram diariamente calibrados conforme instruções do fabricante: Calibrite (BD)TM para o FCalibur e CS&T (BD)TM e Rainbow beads (Spherotech)TM para o FCanto II. Foram usadas as otimizações pertinentes para esse tipo de amostra em ambos os CF. Os softwares usados para análise de dados foram CellQuest(BD)TM e FACSDiva (BD)TM. Foi usada como parâmetro objetivo a porcentagem de expressão dos AcM, combinados de 2 em 2, em cada quadrante de dot plots. Foi feito o gate na população de células patológicas. A intensidade de expressão dos AcM não foi usada como parâmetro pela diferença do número de canais de fluorescência entre os dois CF. Para avaliação estatística foi usado o software SPSS (IBM)[®], com a análise de correlação bivariada e o coeficiente de correlação de Pearson (R2). **Resultados:** A correlação entre os dois CF, por painel de AcM usado, e o número de determinações obtidas nas análises dos plots foram: 99% para o painel de triagem de leucemias agudas ($n = 453$); 98% para LMA ($n = 720$); 99% para MDS ($n = 1.076$); 99% para LLA B ($n = 193$); 99% para MMúltiplo ($n = 112$); 99% para LLC ($n = 178$). **Conclusão:** A validação feita se mostrou uma ferramenta consistente para garantir a reprodutibilidade de resultados entre as plataformas dos citômetros de fluxo avaliados em amostras de neoplasias hematopoéticas.

305. INCIDÊNCIA DE LEUCEMIAS NA CIDADE DE MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE

Oliveira JC, Tamashiro DGC, Oliveira LOS, Pereira WO

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), Natal, RN, Brasil

Introdução: O termo leucemia refere-se a um grupo de doenças complexas e diferentes entre si, as quais são caracterizadas por uma proliferação desregulada, na medula óssea, de uma célula hematopoética que afeta a produção dos leucócitos. A célula leucêmica cresce mais do que os elementos normais e os substitui em todas as áreas da medula. Prolifera-se também em locais como o fígado e o baço e, nas leucemias linfocíticas, os linfonodos. Os tipos de leucemia mieloide e linfóide apresentam-se de forma aguda. Progredem rapidamente ou de forma crônica, que é de progressão lenta. **Objetivo:** O presente trabalho teve por objetivo primordial a análise da incidência de leucemias em pacientes atendidos no Centro de Oncologia e Hematologia de Mossoró (COHM), de janeiro de 2008 a dezembro de 2012. **Material e métodos:** O estudo caracteriza-se como descritivo retrospectivo, feito por meio da revisão de um banco de dados criado pelo COHM. Foram considerados todos os pacientes diagnosticados com leucemia atendidos de janeiro de 2008 a dezembro de 2012 (n = 92). Os dados coletados foram: idade, sexo, ano de diagnóstico (2008-2012), tipo de leucemia, cidade de origem, status vital e mortalidade. A análise dos dados foi feita com o **software** SPSS versão 11.5. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (CEP/UERN), sob o protocolo de nº 097/11 conforme estabelecem as normas das Resoluções 196/96 e 441/11. **Resultados:** Entre os 92 pacientes com leucemia atendidos no COHM, 53 foram diagnosticados com leucemias agudas (57,6%) e 39 com leucemias crônicas (42,4%). Dos 53 pacientes com diagnóstico de leucemia aguda, 17 (18,5%) tinham leucemia linfóide aguda (LLA) e 36 (39,1%) leucemia mieloide aguda (LMA). Dos 39 pacientes com diagnóstico de leucemia crônica, 15 (16,3%) tinham leucemia linfóide crônica (LLC) e 24 (26,1%) leucemia mieloide crônica (LMC). Verificou-se que 54 pacientes (58,7%) eram do sexo masculino e 38 (41,3%) do feminino. Dos 92 pacientes, 30 (32,6%) permanecem em tratamento, 19 (20,7%) fora do tratamento e 43 (46,7%) vieram a óbito. Entre os 92 pacientes, 22 (23,9%) tinham até 20 anos, 24 (26,1%) entre 21 e 50 anos, 39 (42,4%) entre 51 e 80 anos e sete (7,6%) entre 81 e 100 anos. Verificou-se que 26,1% dos casos foram diagnosticadas em pacientes provenientes da zona rural e 73,9% advindos da zona urbana. Um maior número de casos foi observado em 2011 (27) e um menor número em 2008 (13). **Conclusão:** Obtivemos uma melhor caracterização das leucemias em Mossoró, com alguns resultados em conformidade com os de outros autores. A geração de dados epidemiológicos confiáveis é necessária para o planejamento de programas que se propõem a melhorar a atenção aos pacientes, permitir detectar áreas onde a população é mais afetada pela doença e auxiliar no planejamento e estabelecimento de programas de tratamento.

306. PESQUISA DAS MUTAÇÕES NO GENE FLT3 E SUA ASSOCIAÇÃO COM OUTROS FATORES PROGNÓSTICOS EM PACIENTES ADULTOS E PEDIÁTRICOS COM DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA AGUDA

Burnatt G, Licínio MA, Moraes ACR, Mattiolo C, Dametto GC, Del-Moral JAG, Silva MCS

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Introdução: As leucemias agudas (LA) compreendem um grupo heterogêneo de doenças caracterizadas pela rápida e incontrolada expansão clonal de células progenitoras do sistema hematopoético. Segundo a atual classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS), características imunofenotípicas, citogenéticas e moleculares, além de outras correlações, estão relacionadas ao prognóstico e contribuem para a estratificação das LA. A estratificação de risco é baseada na citogenética e na incidência de mutações gênicas. Entre essas alterações, as mutações no gene FLT3 têm significativa importância, pois estão presente em cerca de 30% dos pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA). Os dois tipos principais de mutações nesse gene são as duplicações internas em tandem (DIT) e as mutações circunstanciais D835. **Objetivo:** Avaliar a associação das mutações no gene FLT3 com outros fatores prognósticos. **Material e métodos:** Foram encaminhadas 85 amostras de medula óssea ou de sangue periférico ao Laboratório de Oncologia

Experimental e Hemopatias (LOEH), para a investigação das mutações no gene FLT3. Os pacientes foram divididos em dois grupos: com idade superior a 16 anos (adulto, n = 45) e com idade igual ou inferior a 16 anos (crianças, n = 40). **Resultados:** No grupo adulto, entre os pacientes com o diagnóstico de LLA, dois apresentaram mutações no gene FLT3 (um caso FLT3-DIT e um caso FLT3-D835: 5,6%), enquanto seis pacientes com LMA apresentaram mutação no gene em questão (dois casos FLT3-DIT: 7,4% e quatro casos FLT3-D835: 14,8%). Não houve correlação entre a presença dessas mutações com o subtipo de LA. Porém, observou-se que a presença da mutação foi mais frequente em pacientes com LMA. No grupo pediátrico, 33,3% dos pacientes com LMA e 10,7% dos pacientes com LLA apresentaram mutações do tipo FLT3 -DIT. Embora a mutação FLT3-DIT não esteja associada aos subtipos de LA (p = 0,168), foi possível observar que essa mutação é mais frequente em crianças com LMA, assim como no grupo adulto. A mutação FLT3-D835 foi detectada em apenas um caso (8,3%) diagnosticado com o subtipo LMA. Fez-se a associação entre as mutações FLT3 com a idade, leucometria, percentagem de blastos, expressão de CD34, atividade da LDH e progressão do paciente. Não foi possível observar correlação entre esses fatores com a presença das mutações FLT3 para o grupo adulto. Apesar de esses parâmetros não apresentarem correlação significativa, os pacientes com FLT3-DIT apresentaram leucometria e atividade da LDH acima do valores de referência superiores. A análise de correlação para o grupo pediátrico mostrou que a presença da mutação FLT3-DIT foi relacionada apenas com a contagem de leucócitos (LMA p = 0,007; LLA p = 0,005). Ainda, nos pacientes com LMA e presença de FLT3-DIT observou-se uma tendência para uma maior expressão de CD34 (p = 0,078) e pior progressão depois de seis meses de diagnóstico (p = 0,067). Além disso, a atividade da LDH estava muito acima do valor de referência superior, como observado no grupo adulto. Para a mutação FLT3-D835 no grupo pediátrico não houve correlação estatística com os fatores prognósticos analisados. **Conclusão:** A presença de mutações no gene FLT3, assim como os demais parâmetros analisados, é fator independente de mau prognóstico.

307. PAPEL DAS CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS NO MICROAMBIENTE PRÓ-INFLAMATÓRIO DA LMA

Lopes MR^a, Pereira JKN^a, Campos PM^a, Machado-Neto JA^a, Lorand-Metze I^a, Traina F^{a,b}, Costa FF^a, Olalla-Saad ST^a, Favaro P^{a,c}

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema, SP, Brasil

Introdução: Está amplamente descrito na literatura que as células estromais mesenquimais de medula óssea (CEMs) desempenham um papel importante na patogênese de diversas doenças hematológicas. As CEMs têm baixa imunogenicidade e são capazes de inibir a proliferação e ativação dos linfócitos T. Esses efeitos são mediados por contato célula-célula e fatores solúveis. No entanto, os efeitos imunomodulatórios das CEMs ainda não estão bem elucidados em pacientes com SMD e LMA. **Objetivo:** Caracterizar o fenótipo, a capacidade imunossupressora e expressão de TGFβ1, IDO, PGE2, IL1β e IL6 em CEMs de pacientes com SMD e LMA. **Material e métodos:** Após consentimento informado, amostras de medula óssea foram coletadas de sete doadores saudáveis (idade entre 28-57), 17 pacientes com SMD (idade entre 50-83) e sete pacientes com LMA (idade entre 30-86). As CEMs foram analisadas após a quarta passagem e o fenótipo foi avaliado por citometria de fluxo, por meio dos seguintes anticorpos: CD31, CD34, CD45, HLA-DR, CD73, CD90 e CD105. Para o ensaio de proliferação de células T, linfócitos T CD3+ alogênicos, purificados a partir de sangue periférico, foram marcados com CFSE e cultivados na razão CEMs/células T de 1/2, 1/5, 1/10, 1/50 e 1/100. A estimulação dos linfócitos T foi induzida por PHA. Após quatro dias, a intensidade de fluorescência do CFSE foi analisada por citometria de fluxo. A expressão gênica foi determinada por PCRq, com a equação 2^{-ΔΔCT}. Mann Whitney, Anova e correlação de Spearman foram usados para a análise estatística. **Resultados:** As CEMs de pacientes com SMD e LMA apresentam fenótipos semelhantes aos de doadores saudáveis; são positivas para CD105, CD90 e CD73 e não expressam CD34,

CD45, CD31 e HLA-DR. Entretanto, as CEMs de LMA não foram capazes de manter os efeitos imunossupressores durante proliferação das células T CD3⁺, exceto na maior razão CEMs/células T (1/2). Além disso, as CEMs de pacientes com LMA apresentaram um aumento significativo na expressão de IDO, IL1 β e IL6 quando comparadas com as do grupo saudável. Também demonstramos, nos pacientes, uma tendência de correlação positiva entre IL1 β e IL6 ($p = 0,05$; $r = 0,39$). As CEMs de doadores saudáveis e de pacientes com SMD foram capazes de inibir, de forma dose-dependente, a resposta proliferativa dos linfócitos T CD3⁺ ($p < 0,01$) e não houve diferenças significativas na expressão das citocinas testadas. **Discussão:** Já foi descrito que blastos de LMA podem produzir IDO, IL6 e IL1 β . Entretanto, pela primeira vez demonstramos que a expressão dessas citocinas foi aumentada em CEMs de LMA. IDO é um agente imunossupressor que bloqueia a ativação de células T, enquanto a presença das citocinas IL6 e IL1 β contribui para o ambiente inflamatório, característico do câncer. Nossos resultados preliminares da correlação entre os níveis de IL6 e IL1 β sugerem a interação entre essas duas citocinas. Acreditamos que os defeitos observados na capacidade imunorregulatória das CEMs de LMA são causados pela desregulação das citocinas. **Conclusão:** Embora as CEMs de LMA sejam semelhantes ao grupo saudável no fenótipo, elas não são capazes de inibir a proliferação de linfócitos T e podem contribuir para o crescimento do tumor.

308. ATIVIDADE ANTITUMORAL DE NVP-BKM120, UM POTENTE INIBIDOR DE TODAS AS ISOFORMAS DE PI3K CLASSE I, EM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

Pereira JKN^a, Machado-Neto JA^a, Lopes MR^a, Traina F^{a,b}, Costa FF^a, Olalla-Saad ST^a, Favaro P^{a,c}

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema, SP, Brasil

Introdução: A ativação constitutiva da via PI3K está bem descrita na leucemia linfoblástica de células T (LLA-T). O papel da via PI3K também foi descrito, em conjunto com MYC, no desenvolvimento de linfoma de Burkitt (LB). NVP-BKM120 é um pan-inibidor de todas as isoformas da PI3K classe I. **Objetivo:** Avaliar os efeitos celulares e moleculares de NVP-BKM120 em linhagens celulares de LLA-T e LB. **Material e métodos:** Jurkat, Molt-4, Daudi e Namalwa foram obtidas pela ATCC. NVP-BKM120 (cedido gentilmente pela Novartis) foi diluído em DMSO (usado como controle negativo em todos os experimentos). A viabilidade celular foi avaliada por meio do ensaio de MTT. A formação de colônia foi feita em meio semissólido de metilcelulose. Apoptose foi avaliada pela marcação de anexina-V/PI e pela clivagem das procaspases 3, 8 e 9. A análise proteica foi feita por meio de *western blot*. A detecção e quantificação das organelas vesiculares ácidas (AVOs) foi feita por meio da marcação com laranja de acridina e analisada por citometria de fluxo. A comparação entre os grupos foi feita pelo teste t. Valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. **Resultados:** Em todas as linhagens, a viabilidade celular e o crescimento clonal diminuíram de maneira dose-dependente, com uma IC₅₀ entre 7-8 μ M. Após seis horas de tratamento, observamos um aumento na porcentagem de células apoptóticas e da clivagem das procaspases 3, 8 e 9 nas células Jurkat, Molt-4 e Namalwa. NVP-BKM120 não apresentou efeito apoptótico na linhagem celular Daudi. O tratamento com a droga também resultou em uma parada na fase G₂/M do ciclo celular, com diminuição da população G₂ e diminuição nos níveis da proteína Ciclina B1. O tratamento com NVP-BKM120 resultou numa diminuição, dose-dependente, da fosforilação de AKT, P70SK6 e 4EBP1. Adicionalmente, observamos uma diminuição também dose-dependente na fosforilação de BAD e um aumento da relação BAX:BCL2. A quantificação de AVOs mostrou um aumento dose-dependente de AVOs em todas as linhagens testadas. **Discussão:** NVP-BKM120 induziu apoptose de maneira dose-dependente nas células Jurkat, Molt-4 e Namalwa, enquanto os efeitos da droga na linhagem Daudi foram principalmente citostáticos. Nessas células, a apoptose parece ser via extrínseca e intrínseca. A diminuição dos níveis de fosforilação de BAD, junto com o aumento da relação BAX:BCL2, está consistente com a ativação da via mitocondrial de apoptose. A diminuição

da proteína Ciclina B1 é provavelmente o mecanismo molecular envolvido no acúmulo das células na fase G₂/M do ciclo, que também está relacionada com aumento de apoptose. Os efeitos da droga na via PI3K indicam que o tratamento é mais efetivo do que moléculas como a rapamicina e seus análogos. NVP-BKM120 inibiu a ativação de 4EBP1 e P70SK6, o que resulta numa inibição global de síntese proteica e, portanto, uma diminuição da expressão de proteínas oncogênicas. Esses resultados também estão de acordo com o aumento de AVOs, uma vez que P70SK6 é uma das cinases que controlam autofagia. **Conclusão:** NVP-BKM120 apresenta uma atividade antitumoral nas células de LLA-T e LB. A redução da proliferação é causada, possivelmente, pela diminuição da ciclina B1 e o aumento da BAX:BCL2 é um dos mecanismos envolvidos na indução de apoptose.

309. PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CD56 ANTIGEN EXPRESSION ON TREATMENT OUTCOME OF PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Andrade AT^a, Bezerra MF^a, Melo AL^a, Franca-Neto PL^a, Coelho-Silva JL^a, Neves MA^b, Neto JM^b, Machado CG^b, Bezerra MA^a, Lucena-Araujo AR^a

^a Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

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

Background: Considerable evidence suggests that the aberrant expression of the CD56 cell marker is frequently associated with inferior outcome in both core-binding factor leukemia and acute promyelocytic leukemia. However, the clinical significance of CD56 expression is still limited, and its prognostic effect in other subtypes of acute myeloid leukemia (AML) remains unclear. This study retrospectively evaluated the expression of CD56 antigen in samples from patients with AML and analyzed its relationship to clinical and laboratory features, hematologic recovery, relapse, and survival. **Design and methods:** Between January of 2009 and December of 2013, 189 consecutive patients with newly diagnosed AML (median age: 56 years, ranging from 18 to 87 years) were included. All patients received two courses of induction therapy with cytarabine 100 mg/m²/day administered as a continuous seven-day infusion, plus daunorubicin 60 mg/m²/day administered as a one-hour infusion on each of the first three days of treatment, as widely used. To determine the expression of CD56 antigen, immunophenotypic analysis was accomplished using bone marrow samples collected at diagnosis. Following international criteria, a sample was defined as CD56-positive if more than 20% of leukemic cells expressed CD56 antigen in the cell surface. **Results:** The CD56 analysis was performed in 156/189 (83%) AML patients. The remaining 33 (17%) samples without CD56 data had no available data or samples, and thus, they were excluded from analysis. To test whether the samples without CD56 results were missing at random, the overall survival (OS) was evaluated for patients with and without CD56 data. The five-year OS was not different among patients with and without CD56 available data (29% and 33%, respectively; $p = 0,251$). CD56 antigen expression was identified in 56 patients (36%). There were no significant differences between CD56-negative and CD56-positive patients with respect to age, gender, WBC counts, hemoglobin levels, FAB classification, or blast counts. As cytogenetic evaluation was not performed for all patients, the results were not considered in this study. Complete remission (CR) was achieved in the CD56-negative and CD56-positive patients in 43% and 26% of patients, respectively ($p = 0,04$), but this difference was no longer significant after adjustment (odds ratio: 0.47, 95% CI: 0.21 to 1.04; $p = 0,065$). With a median follow-up of 109 days among survivors (66 to 151 days), patients assigned in the CD56-positive group had a lower five-year OS rate (18%) compared with those in the CD56-negative (35%) group ($p = 0,031$). Similarly, the five-year disease-free survival (DFS) rate was significantly lower in CD56-positive patients (23%) compared with CD56-negative patients (54%) ($p = 0,025$). Additionally, Cox regression analysis demonstrated that CD56 expression was independently associated with shorter survival (hazard ratio, HR: 1.39, 95% CI: 1.01 to 2.18; $p = 0,039$) and disease-free survival (HR: 3.13, 95% CI: 1.11 to 8.81; $p = 0,031$), considering WBC counts (continuous variable) and age (continuous variable) as confounders. **Conclusions:** These results showed that CD56 antigen expression is an independent prognostic factor for survival in patients with AML. However, these results are representative of a single institution and require confirmation in an independent cohort.

310. LEUCEMIA DE CÉLULAS HAND MIRROR (ESPELHO DE MÃO) – RELATO DE CASO

Saldanha AFA, Passaro MS, Silva E, Silveira PA, Colombini MP

Laboratório de Hematologia e Coagulação, Laboratório Clínico, Departamento de Medicina Diagnóstica e Preventiva, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A leucemia linfoblástica B/linfoma linfoblástico é classificado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma neoplasia de células B precursoras (linfoblastos), composta por células de pequeno a médio porte, com escassez citoplasmática; cromatina dispersa e moderadamente condensada; núcleo redondo, irregular ou convoluto; nucléolo pouco evidente, que atinge medula óssea e sangue periférico. Em raros casos, os linfoblastos podem apresentar aspecto morfológico diferenciado, com presença de grande pseudópodo citoplasmático em uma única direção e leva ao aspecto de “espelho de mão” (*hand mirror leukemia*). A leucemia linfóide aguda com células em “espelho de mão” foi descrita pela primeira vez em 1980, com o relato de nove casos, com imunofenótipo nulo (negativos para marcadores imunológicos B e T). Apresentavam TdT+ e PAS fortemente positivo. A citogenética, em geral, revelava cariótipo normal e acreditava-se que os achados morfológicos dessas células na medula óssea estariam relacionados com mau prognóstico. **Objetivo:** Relatar um caso de paciente com diagnóstico de LLA-B e com morfologia característica *hand mirror*. **Relato de caso:** Paciente masculino, 44 anos com leucocitose ($50.910/\text{mm}^3$), anemia ($6,1 \text{ g/dL}$) e plaquetopenia ($30.000 \times 10^3/\text{uL}$), com 93% de blastos linfóides. A medula óssea mostrava-se hiperplasmática com 87,2% de blastos linfóides com alta relação núcleo citoplasmáticas; citoplasma escasso, alguns com nucléolos e presença de frequentes células com aspecto *hand mirror*. **Resultados:** No hemograma, o sangue periférico apresentava-se com leucocitose ($50.910/\text{mm}^3$), com 93% de blastos linfóides, anemia ($6,1 \text{ g/dL}$) e plaquetopenia ($30.000 \times 10^3/\text{uL}$). A medula óssea mostrava-se hiperplasmática, com 87,2% de blastos linfóides com alta relação núcleo citoplasmáticas; citoplasma escasso, alguns com nucléolos e presença de frequentes células com aspecto *hand mirror*. A imunofenotipagem evidenciou expressão antigênica positiva de CD10 (moderada expressão); CD19 (moderada expressão); CD22 (fraca expressão); CD33 (fraca expressão); CD34 (moderada expressão); HLA-DR (moderada expressão) e CD79a (fraca expressão), compatível com LLA-B precursora. O cariótipo foi normal (46XY) e a pesquisa do cromossomo Filadélfia (fusão BCR-ABL1) foi negativa. O tratamento foi iniciado com esquema quimioterápico para LLA de adulto (GRAAL). Não houve remissão inicial após a indução. Após o regime de consolidação obteve-se a remissão hematológica, mas com doença residual mínima. Foi indicado pela gravidade do caso o transplante de medula óssea alogênico com doador não aparentado. No momento, após 70 dias do transplante feito, o paciente encontra-se em remissão completa. **Conclusão:** O achado das características morfológicas de *hand mirror* na leucemia linfóide aguda pode ter implicações prognósticas que indica dificuldade de resposta à quimioterapia.

311. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DO CD58 NA PESQUISA DE DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA EM PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B

Eli D, Azambuja AP, Beltrame MP

Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A doença residual mínima (DRM) representa a pesquisa da remissão clínica e morfológica da leucemia linfoblástica aguda e pode ser avaliada por citometria de fluxo. A citometria de fluxo é uma ferramenta importante para o monitoramento de DRM de LLA, como um indicador de prognóstico e recaída. Esse fato justifica a necessidade de detecção precoce de células imaturas, enquanto ainda não é percebida à análise morfológica. Para monitorar a DRM em LLA-B é imperativo determinar a expressão de marcadores fenotípicos adicionais que possam distinguir as células leucêmicas das suas homólogas normais. O CD58 pode desempenhar bem esse papel, por causa da superexpressão desse marcador nas células precursoras linfóides B anormais. **Objetivo:** Analisar a intensidade média de fluorescência (IMF) do anticorpo monoclonal CD58 nas populações de linfócitos B maduros e de células precursoras normais e dos blastos da linhagem linfóide B em pacientes com diagnóstico de LLA-B em avaliação para pesquisa de DRM. **Material e método:** O estudo foi feito no Laboratório de Imunofenotipagem do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC/UFPR) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa. Foram avaliadas 74 amostras de 46 pacientes para ava-

liar DRM de LLA-B, de janeiro a dezembro de 2012. A idade média foi de 11,9 (um a 53 anos). A contagem global de leucócitos foi em média $51.841/\mu\text{L}$ ($800/\mu\text{L}$ a $307.900/\mu\text{L}$). Foram analisados os parâmetros de tamanho, complexidade e expressão dos marcadores CD10, CD19, CD20, CD34, CD45 e CD58, com o objetivo de identificar e classificar a linhagem linfóide B e obter a IMF do CD58 em cada população. **Resultados:** Foi obtido IMF de $82,13 \pm 53,07$ nos blastos; $26,05 \pm 14,09$ nas células precursoras linfóides B e $17,94 \pm 9,59$ nos linfócitos B maduros. Do total de amostras, 35 casos foram DRM positivas com blastos que expressavam IMF superior a 40,1. Nas células precursoras linfóides B normais, a IMF dessa variou de $< 0,01$ a 40; enquanto nos linfócitos B maduros a IMF variou de 0,1 a 30. Foi avaliada a associação entre as IMF das populações estudadas por meio do coeficiente de correlação de Spearman e valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Com isso foi observada correlação fraca entre a IMF dos blastos, das células precursoras B normais e dos linfócitos B maduros, o que evidencia que a IMF pode ser uma ferramenta importante para a diferenciação entre os grupos celulares descritos. **Conclusão:** A inclusão do marcador CD58 no painel de avaliação de DRM de LLA-B pode contribuir para o monitoramento nesse grupo de pacientes.

312. TRATAMENTO INDIVIDUALIZADO NA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA (LPA) EM QUATRO CASOS ESPECIAIS

Rosa LI^{a,b}, Kerbauy MN^{a,b}, Buccheri V^{a,b}, Martinez GA^{a,b}, Yamakawa PE^{a,b}, Medina AB^{a,b}, Velloso EDRP^{a,b}

^a Serviço de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A administração simultânea de ATRA e antracíclicos é atualmente o tratamento de indução padrão da LPA. Em situações especiais, tal terapêutica é limitada por potenciais riscos da quimioterapia combinada. **Objetivo:** Relatar quatro casos de tratamento individualizado de LPA no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo/Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP): paciente Testemunha de Jeová com recusa ao uso de hemocomponentes; paciente com miocardiopatia por distrofia muscular de Duchenne; paciente idoso com disfunção cardíaca; paciente com diagnóstico concomitante de LPA e SIDA. Todos os diagnósticos de LPA foram confirmados por técnicas genéticas e todos os pacientes mantêm remissão citomorfológica e molecular até a presente data. **Relatos de caso:** 1) Masculino, 25 anos, com distrofia muscular de Duchenne e miocardiopatia dilatada grave, com diagnóstico de LPA risco baixo em julho de 2012, sem coagulopatia. Indução com ATRA 45 mg/m^2 em monoterapia por três meses, com RC. Manutenção com MTX semanal, 6-MP diário e ATRA a cada três meses. Evoluiu com bicitopenia em uso de MTX, com suspensão do medicamento. Atualmente em manutenção com 6-MP e ATRA, iniciada em outubro de 2012. 2) Feminino, 44 anos, Testemunha de Jeová, com LPA risco intermediário diagnosticada em setembro de 2010, sem coagulopatia. Recusou uso de hemocomponentes. Foram feitos apenas ATRA e profilaxia de SNC. Apresentou valor mínimo de hemoglobina de $4,3 \text{ g/dL}$ no D18 da indução e plaquetas de 9 mil no D1, com hemorragia retiniana e sequela visual. Consolidação com dois ciclos de daunorrubicina 45 mg/m^2 por três dias e manutenção com ATRA 45 mg/m^2 trimestral, 6-MP 90 mg/m^2 diário e MTX 15 mg/m^2 semanal. Evoluiu com hepatotoxicidade. Foi mantido apenas ATRA trimestral a partir do oitavo ciclo. Término de tratamento em maio de 2013. 3) Feminino, 74 anos, com HAS, hipotireoidismo, 2 AVCi prévios e IC, diagnosticada por hemograma pré-operatório com LPA risco baixo em julho de 2011, com hipofibrinogenemia. Indução com ATRA e mitoxantrona por três dias e mielograma no D30 com RC morfológica. Apresentou neutropenia febril e trombose de VJD. Feita consolidação com mitoxantrona por três dias e manutenção com ATRA trimestral, 6-MP diário e MTX semanal. Término de manutenção em dezembro de 2013. 4) Masculino, 36 anos, diagnóstico simultâneo de SIDA e LPA risco intermediário em março/2007, com hipofibrinogenemia (fibrinogênio indetectável). Feito ATRA 75% dose, dexta 8 mg/dia e daunorrubicina por três dias, sem uso de citarabina. Iniciou terapia antiretroviral concomitante à indução, sem infecções oportunistas durante tratamento. Manutenção com ATRA trimestral, 6-MP e MTX semanal. Término de tratamento em julho de 2009. **Conclusão:** O uso do tratamento padrão da LPA é influenciado pela idade e pelas condições clínicas. Apesar da resposta significativa, ensaios clínicos incluem número mínimo de pacientes idosos ou com comorbidades limitantes ao uso do esquema padrão, que leva à necessidade de análise individualizada do tratamento. Estratégias terapêuticas visando à redução de toxicidade têm sido estudadas. Destaca-se o uso do trióxido de arsênio em pacientes re-

cém-diagnosticados como opção com alta taxa de remissão. Os casos relatados mostram desfechos positivos, incluindo tempo de remissão superior a cinco anos. Situações como as expostas permanecem escassas na literatura, com poucos relatos de concomitância HIV/LPA e ausência até o momento de relato em portadores de distrofia muscular de Duchenne.

313. TRATAMENTO DA LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA EM ADULTOS COM PROTOCOLO QUIMIOTERÁPICO CALGB 8811 – EXPERIÊNCIA DO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER CANTÍDIO

Carvalho LEM^a, Dantas ELR^a, Albuquerque LM^a, Silva FAC^a, Leitão JPV^a, Kaufman J^{a,b}, Araújo BSGSP^{a,b}, Barroso KSN^{a,b}, Ribeiro RA^{a,b}, Duarte FB^{a,b}

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

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: A leucemia linfóide aguda (LLA) representa cerca de 20% dos casos de leucemias agudas em adultos.¹ Um dos protocolos de quimioterapia para tratamento dessa patologia é o CALGB 8811, que é dividido em cinco fases: indução, intensificação precoce, manutenção e profilaxia de sistema nervoso central (SNC), intensificação tardia e manutenção prolongada. Tal protocolo caracteriza-se por necessitar de internação hospitalar apenas na fase de indução. O restante do tratamento é de caráter ambulatorial. Apresenta taxas de remissão completa (RC) e sobrevida livre de leucemia (LFS) equiparáveis a outros protocolos de quimioterapia.² **Objetivo:** Relatar a experiência de um centro do Nordeste do Brasil no tratamento de pacientes adultos com LLA submetidos ao protocolo de quimioterapia CALGB 8811. **Material e métodos:** Análise retrospectiva de pacientes com LLA *de novo* tratados com CALGB 8811 em nosso hospital de março de 2011 a abril de 2014. Pacientes com LLA de alto risco e doador HLA idêntico eram encaminhados para transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) alogênico em primeira remissão completa. **Resultados:** Doze pacientes com diagnóstico de LLA, previamente não tratados, foram submetidos ao protocolo CALGB 8811 nesse período. Eram cinco mulheres (41,6%) e sete homens (58,4%). A mediana de idade foi de 40 anos (19,5 a 60,4). A mediana de tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi de 44 dias. Nove pacientes (75%) apresentavam LLA alto risco e três (25%), LLA risco *standard*. Entre os alto risco, dois pacientes (16,6%) apresentavam LLA Filadélfia positivo (Ph+) e receberam Imatinib 600 mg/dia associado à quimioterapia. Onze pacientes (91,7%) entraram em RC após a fase de indução. A taxa de mortalidade na indução foi de 8,3%. A mediana de tempo entre o início da fase de indução e o início da fase de manutenção prolongada foi de 32 semanas. As principais complicações observadas foram neutropenia febril (50%) e hipofibrinogenemia (16,6%), principalmente durante a fase de indução. Três pacientes foram submetidos a TCTH alogênico aparentado em primeira remissão. Entre os pacientes que atingiram RC após a indução, houve cinco óbitos: três após recaída da doença, um por complicações infecciosas após TCTH e um de causa não relacionada. Após uma mediana de tempo de seguimento de 15,9 meses, a sobrevida global (SG) foi de 54,5% e a probabilidade de LFS em três anos foi de 68%. Entre os pacientes não submetidos a TCTH, a SG foi de 50% e a taxa de recaída foi de 38%, com mediana de LFS de 14,5 meses e probabilidade de LFS em 3 anos de 57,1%. **Conclusão:** O protocolo CALGB 8811 é viável para o tratamento de LLA no nosso serviço e apresenta resultados de SG e LFS superiores aos da literatura. Entretanto, é necessário maior número de pacientes, com maior tempo de acompanhamento, para comprovação dos resultados.

Referências:

1. Larson RA. Blood, 1995.
2. Abbasi S. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 2013.

314. ESTUDO CITOGENÉTICO NA INVESTIGAÇÃO DA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES

Cueva SDL^a, Marques FK^b, Rezende MCR^a, Ângelo PC^a, Mateo EC^b, Ferreira ACS^b

^a Setor de Citogenética, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Setor de Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A leucemia linfoblástica aguda (LLA) destaca-se como a forma mais comum de câncer na infância e representa cerca de 70% das

neoplasias pediátricas. É caracterizada pela proliferação anormal de células linfóides imaturas com acúmulo de linfoblastos na medula óssea e no sangue periférico. Sua incidência é maior entre crianças brancas e do sexo masculino. O diagnóstico consiste nos exames citomorfológicos do sangue e da medula óssea, imunofenotipagem e citogenética. A investigação citogenética tem fornecido informações relevantes sobre as alterações cromossômicas e seu significado prognóstico. Anormalidades cromossômicas tais como hiperdiploidia, pseudodiploidia, translocação t(9;22), rearranjos que envolvem os cromossomos 6q, 9p, 11q23 (gene MLL) e 12p são achados frequentes. Curiosamente, a incidência e o prognóstico dessas alterações podem variar entre grupos etários. **Objetivo:** Levantar os resultados de cariótipo de medula óssea de 37 crianças e adolescentes com idades entre 0 a 15 anos em investigação de LLA obtidos no Setor de Citogenética do Instituto Hermes Pardini de julho de 2013 a abril de 2014. Dos 37 pacientes avaliados, 12 eram meninas (32,4%) e 25 meninos (67,6%) e a média de idade foi de 7,3 anos. **Resultados:** Foram encontradas alterações cromossômicas em 19 pacientes (51,4%). Entre as alterações encontradas destacam-se as pseudodiploidias em oito pacientes (42,1%) que apresentaram apenas alterações estruturais e 11 (57,9%) que apresentaram alterações numéricas e estruturais. Foram observadas alterações estruturais descritas na literatura, como: t(9;22)(q34;q11,2), t(1;19)(q23;p13), del(11)(p12p13), deleções em 6q, anormalidades em 9p como add(p24) e t(3;9)(p13;p22), rearranjos em 11q23 e 12p. Em quatro casos (21%) foi observado cariótipo hiperdiploide (> 50 cromossomos), considerado de prognóstico favorável quando não está acompanhado de alterações estruturais. **Discussão:** Embora os clones hiperdiploides raramente sejam idênticos, há relatos na literatura que indicam uma tendência para o ganho de cromossomos com cópias extras dos cromossomos 4, 6, 10, 14, 18, 21 e X, o que também foi observado neste estudo. **Conclusão:** Ficou evidenciada a importância da pesquisa das alterações cromossômicas como importante ferramenta na investigação genética da LLA em crianças e adolescentes, bem como sua influência no prognóstico e na escolha da melhor conduta terapêutica.

315. ANTICORPO CD25 COMO INDICATIVO DA PRESENÇA DO GENE BCR-ABL – RELATO DE CASO

Soares JM^a, Beltrame MP^b

^a Programa de Oncologia e Hematologia, Hospital das Clínicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^b Laboratório de Citometria de Fluxo, Programa de Residência Multiprofissional em Oncologia e Hematologia, Hospital das Clínicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Objetivo: Descrever a forte expressão do marcador CD25 por citometria de fluxo de uma paciente com diagnóstico de leucemia linfoblástica B. Essa alteração direcionou a pesquisa do gene BCR-ABL e consequente a escolha do tratamento. O cromossomo Filadélfia (Ph) é o resultado da translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22 (t(9;22)) e está relacionado com a alta taxa de recaída, curta sobrevida livre de doença e sobrevida global em pacientes com leucemia linfoblástica aguda (LLA). No entanto, o diagnóstico rápido e preciso e a introdução do tratamento com inibidores de tirosina quinase (ITQ) aumentaram muito a duração e a intensidade da remissão completa. **Relato de caso:** A paciente foi admitida no HC-UFPR com no sangue periférico 3.800/μL de leucócitos (2% blastos), 35 eritroblastos/100 leucócitos, 17.000/μL de plaquetas e 10 g/dL de hemoglobina. O aspirado de medula óssea apresentou 64% de blastos, de tamanho mediano a grande, com várias alterações morfológicas, além de diseritropoiese e ausência de megacariócitos. A imunofenotipagem apresentou 56,6% de blastos: CD79 (cito), TdT (nuclear) e para os antígenos de membrana CD10, CD19, CD22, CD34, CD38 e NG2, com fenótipo compatível para LLA Pré-B Precoce Comum. Além desses marcadores, houve coexpressão do CD13 e CD33 de linhagem mieloide. A forte positividade para o CD25 sugere a translocação cromossômica t(9;22). A análise de cariótipo por bandeamento G apresentou uma suspeita dessa translocação em duas das quatro metafases analisadas. Esse achado foi confirmado por RT-PCR multiplex de sangue periférico, que confirmou a positividade para o gene BCR-ABL do tipo e1a2. A indução do tratamento da paciente foi feita pelo protocolo CALGB, a partir desse diagnóstico, LLA pré-B precoce comum com forte expressão para CD25 e presença de cromossomo Ph. Foi iniciado o tratamento com Glivec. **Discussão:** Os inibidores de tirosina quinase (ITQ) são específicos para o tratamento de leucemias Ph+ e revolucionaram o desfecho da doença para esses pacientes. Esse caso foi escolhido porque demonstra claramente a im-

portância do diagnóstico precoce que leva ao tratamento ideal de um paciente com LLA Ph+. Para um diagnóstico confiável de citogenética e avaliação de clonalidade, é preciso a análise completa de 20 metáfases e que pelo menos duas delas apresentem a mesma alteração. Há casos de BCR-ABL positivos por *nested* PCR que podem apresentar a citogenética convencional normal ou até mesmo não apresentarem metáfases em número suficiente para análise. A identificação da cadeia alfa do receptor de interleucina 2 (CD25) em linfócitos B está altamente correlacionada com a presença de cromossomo Filadélfia e mostra significativa diminuição da resposta à quimioterapia e pior prognóstico. Além disso, a translocação t(9;22) é conhecida como fator independente de mau prognóstico e interfere na terapia. A partir dessa premissa, a presença do fenótipo CD25 positivo no caso em questão levou à confirmação por RT-PCR multiplex do resultado já alertado pela análise cromossômica, a presença do cromossomo translocado t(9;22). **Conclusão:** É importante ressaltar que a pesquisa da interleucina não exclui a necessidade da análise de cariótipo e da confirmação da pesquisa por técnicas moleculares. É mais uma ferramenta para predição e auxílio do manejo do risco de pacientes com LLA, principalmente em centros com condições limitadas.

316. LEUKEMIA CUTIS SIMULANDO HANSENÍASE VIRCHOWIANA – UMA APRESENTAÇÃO ATÍPICA

Bucci KB^a, Fonseca VMGT^b, Sibillo LAP^b, Chan HF^a, Russo R^b, Santos RMD^b, Costa RO^a, Costa RO^b

^a Faculdade de Ciências Médicas de Santos (FCMS), Santos, SP, Brasil

^b Hospital Guilherme Álvaro, Santos, SP, Brasil

Introdução: A leucemia aguda é uma doença maligna do sistema hematopoiético que pode levar ao surgimento de anemia, infecção e sangramento e, em torno de 2-10% dos casos, a manifestações cutâneas. **Objetivo:** Relatar caso clínico de paciente portadora de LMA com manifestação cutânea, *Leukemia cutis* (LC). **Material e métodos:** Mulher, 51 anos, com queixa de adinamia, inapetência e aparecimento de lesões cutâneas havia um mês, apresentava fácies leonina e lesões em pele homocrômicas indolores, nodulares, endurecidas, de 0,5 a 2 cm, com sensibilidade preservada, não pruriginosas, bem delimitadas e disseminadas, com predominância em tronco, face e pregas cubitais. **Resultados:** Mielograma evidenciou substituição da MO por monoblastos, compatível com LMA M5. Imunofenotipagem concluiu: CD13+, CD14+/-, CD33-, CD 64+, CD117- e MPO+. Feito *punch* em pele compatível com LC. O cariótipo demonstrou trissomia do cromossomo 8 e monossomia do 17. Iniciada indução com D3+7 (idarubicina + citarabina) com resolução das lesões cutâneas no D+8 da indução. Evoluiu, durante a indução, com neutropenia febril e insuficiência hepática possivelmente secundária ao uso de antifúngico, revertidas. No momento, segue em QT pós-remissão e ausência de infiltração cutânea. **Discussão:** A LMA M5 representa cerca de 2% a 10% das LMA. A doença extramedular com hipertrofia gengival, infiltração cutânea, linfonodal, testicular e de SNC é mais comum nesse tipo e pode ocorrer em 50% dos casos. A LC representa a infiltração de células neoplásicas na pele, é observada em 2-10% de todas as leucemias e é mais frequente na leucemia monoblastica aguda (LMA M5, 25-31%) e mielomonoblastica (LMA M4, 10-20%). Pode preceder o diagnóstico de LMA (7%), ser diagnosticada concomitante a ele (38%), como em nossa paciente, ou, mais usualmente, ocorrer como recidiva extramedular. A pele pode ser o primeiro sítio da doença sem ocorrer comprometimento do SPou MO, denomina-se o quadro como LC aleucêmica, cujas manifestações cutâneas são divididas em inespecíficas (MCI) e específicas (MCE). MCI são mais frequentes, resultado de alterações no sangue (equimoses, petéquias), imunossupressão (infecções) e síndromes paraneoplásicas. MCE, referidas como LC, incluem todas as lesões caracterizadas por infiltrações de células leucêmicas, independentemente de sua morfologia clínica. As placas leucêmicas podem causar espessamento da pele do couro cabeludo, das sobrancelhas e das bochechas e produzir fácies leonina. Por causa do pleomorfismo de apresentação, diversos diagnósticos diferenciais são encontrados. A fisiopatologia da migração das células leucemoides não está bem esclarecida. Acredita-se que existam quimioquinas e outras moléculas de adesinas que tornam a pele um local de depósito de células B e T leucêmicas. Algumas anormalidades genéticas são associadas à LC, incluindo anormalidades no cromossomo 8, translocação (8, 21) (q22; Q22) e de inversão (16) (p13; q22). Apesar da radiosensibilidade das lesões, os pacientes devem ser tratados com QT sistêmica. **Conclusão:** A LC deve ser considerada como uma manifestação de mau prognóstico, já que pacientes com LMA sem lesões em pele apresentam uma sobrevida de 30% em dois anos, enquanto pacientes com lesões

em pele, de 6%. Por causa da ausência de uma lesão patognomônica que caracterize a LC, pode ocorrer atraso no diagnóstico e levar a um retardo no início do tratamento.

317. EFEITOS DA PROTEÍNA RECOMBINANTE VEGFA EM CÉLULAS CD34+

Palodetto B, Corrocher FA, Roversi FM, Baratti MO, Duarte ASS, Saad STO

Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A angiogênese tem papel fundamental no crescimento e na metástase de tumores sólidos e apenas há alguns anos vem sendo reportada a sua importância em doenças hematológicas. O *switch* angiogênico é mediado por diversos fatores pró e anti-angiogênicos. Entre eles, um fator pró-angiogênico muito estudado é o VEGFA. O gene VEGFA codifica o fator de crescimento vascular endotelial, que é uma citocina capaz de estimular as células endoteliais a proliferar, migrar e aumentar sua permeabilidade às proteínas plasmáticas. Diversos estudos descrevem o aumento de VEGFA em pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA) e síndrome mielodisplásica (SMD) e esse aumento está relacionado ao pior prognóstico. Estudos do nosso grupo demonstraram em ensaios de microarranjo a hiperexpressão de VEGFA em células CD34+ de pacientes com SMD de baixo risco. **Material e métodos:** Para entender melhor os efeitos dessa proteína, isolamos células CD34+ provenientes de duas bolsas de sangue de cordão e cultivamos em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) com 20% de soro fetal bovino, 50 ug/mL de Stem Cell Factor, 30 ug/mL de Interleucina 3 e com a proteína VEGFA recombinante nas concentrações de 25 ng/mL, 50 ng/mL ou 100 ng/mL por 96 horas. Fizemos ensaios de apoptose, ciclo celular, proliferação e clonogenicidade celular e comparamos os resultados com células CD34+ controle (não tratadas com VEGFA). **Conclusão:** Apesar da limitação no número de amostras, foi possível identificar um aumento na proliferação celular (118,5 ± 2,9% vs 100 ± 2,9%; p = 0,007) e na formação de colônias (108,2 ± 3,1% vs 94 ± 5,1; p = 0,043) em células CD34+ tratadas principalmente com VEGFA 100 ng/mL em comparação com as células controle. Não encontramos diferença estatística na apoptose e no ciclo celular com o tratamento de VEGFA. Esses resultados sugerem que a hiperexpressão de VEGFA em células CD34+ de mielodisplasia pode conferir vantagem às células-tronco leucêmicas e contribuir para a patogênese de SMD e LMA.

318. MORTALIDADE PRECOZE POR EVENTOS TROMBO-HEMORRÁGICOS NA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE PORTO ALEGRE

Spindler BM, Sarturi B, Contin LC, Breunig R, Soares T, Burin M, Paiva M, Weber C, Bittencourt R, Daudt L

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

Introdução: Após a associação de ácido transretinoico (ATRA) e trióxido de arsênio (ATO) aos quimioterápicos no tratamento da leucemia promielocítica aguda (LPA), essa malignidade passou a ter um potencial de cura além de 80%. Entretanto, a mortalidade precoce (MP) por causa da coagulopatia permanece a principal causa de falha terapêutica. **Objetivo:** Verificar a mortalidade precoce relacionada a eventos trombo-hemorrágicos (ETH) na LPA e o perfil epidemiológico do grupo: demografia, laboratório e incidência de ETH. **Material e métodos:** Estudo observacional retrospectivo com revisão de prontuários de todos os casos de LPA do Hospital das Clínicas de Porto Alegre entre janeiro de 2007 e fevereiro de 2014. Foi elaborado banco de dados e submetido à análise estatística, pelo *software* SPSS. Foi usado o teste não paramétrico *t* para amostras independentes e considerado $p < 0,05$ para significância estatística. **Resultados:** Foram diagnosticados 44 LPAs, estratificados pelo risco e, de imediato, submetidos ao Protocolo Brasileiro IC-LPA, com ATRA+Antraciclina e manejo da coagulopatia. No grupo: 25 (56,8%) mulheres e 19 (43,2%) homens, idade média 37,6 anos (16- 77). Estratificação do risco: 54,5% alto, 31,8% intermediário e 13,6% baixo. A mortalidade precoce foi de 9,1% (quatro pacientes), todos decorrentes de ETH. Ocorreram cinco ETH (quatro hemorragias encefálicas e uma trombose de seio cavernoso). Um entre os cinco pacientes sobreviveu ao evento. ETH só ocorreram naqueles de alto risco. Nos 24 pacientes de alto risco, as medianas foram: 21.525 leucócitos/ μ L, 15.000 plaquetas/ μ L, INR 1,37, KTTTP (relação paciente/controle) 1,05 e fibrinogênio 158,5.

Não houve diferença significativa quanto a idade, contagem plaquetária, INR, K₂₃TTP e fibrinogênio nos casos com ETH. Porém, houve diferença estatisticamente significativa entre a contagem leucocitária, com média de 77.034 leucócitos/ μ L nos ETH contra 30.827,89 nos sem ETH ($p = 0,13$).

Conclusão: Esses resultados concordam com publicações sobre o assunto, exceto pela não identificação de diferença significativa nos parâmetros de coagulação, possivelmente explicada pelo tamanho da amostra.

319. NEOPLASIA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITOIDES BLÁSTICAS COM APRESENTAÇÃO LEUCÊMICA – RELATO DE CASO

Tostes M, Lima CBL, Ribeiro FAS, Coelho MPG, Brazão NBV, Loyola EO, Terra DM, Amaral TSD, Fontes EMA

Instituto Estadual de Hemoterapia Arthur de Lima Cavalcanti (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (NCDPB), um subtipo raro e agressivo de leucemia aguda, foi classificada como leucemia mieloide aguda (LMA) pela OMS em 2008. A incidência da doença é extremamente baixa, representa cerca de 0,44% de todas as malignidades hematológicas. A forma leucemizada da doença é infrequente, representa menos de 1% dos casos de leucemia aguda. Uma característica clínica inicial dessa doença é o envolvimento cutâneo, com disseminação sistêmica simultânea ou posterior. É mais prevalente em pacientes idosos e de sexo masculino. A evolução é, na maioria dos casos, agressiva, com recaída precoce e sobrevida global geralmente em torno de um ano. **Objetivo:** Relatar um caso de NCDPB e descrever os critérios de diagnóstico dessa neoplasia e a importância de sua identificação para o início do tratamento. **Relato de caso:** Paciente de 59 anos, branca, sexo feminino, encaminhada ao HEMORIO com anemia, plaquetopenia, leucocitose, hepatoesplenomegalia, massa inguinal e placas de coloração purpúrea por todo o tegumento. Quadro de início cerca de um ano antes, com surgimento de massa em região anterior da coxa direita, indolor e com crescimento progressivo. Posteriormente apareceram placas de coloração purpúrea no tronco e adenomegalias inguinais e abdominais detectadas em exame de imagem. Perda ponderal de 8 kg no período, astenia intensa e dispnéia aos médios esforços. Ao exame físico: mau estado geral, emagrecida, K PS 2 50%, hipocorada e desidratada. Placas purpúreas em todo o tronco e em membros superiores, adenomegalias inguinais bilaterais com formação de conglomerado linfonodal de 5 cm à direita e hepatoesplenomegalia volumosa. Exames iniciais: Hb: 4,67 g/dL, Ht: 12%, leucometria: 74.500/mm³, plaquetas: 19.700/mm³, LDH: 1.755 U/L, ácido úrico: 15,3 mg/dL, Ca: 8,77. À hematoscopia foram observadas células com formato plasmocitoides. Citoquímica: ácido periódico de Schiff: positivo misto, difuso e granular fino em alguns blastos/sudan-black: negativo/fosfatase ácida: positivo difuso. Estudo inconclusivo. Cariótipo com bandas: ausência de metáfases. Imunofenotipagem: população de células blásticas negativas para CD34 e que expressavam o antígeno CD45 de baixa a intermediária intensidade. Foram critérios para o diagnóstico: coexpressão de CD4+ e CD56+ pelas células blásticas; positividade do antígeno associado às células dendríticas plasmocitoides (CD123+) em associação com HLADR+; ausência dos marcadores determinantes de linhagem mieloide (MPO, CD33, CD13, CD117, CD64 CD14) e linfóide B (CD20, CD19, CD10) ou T (CD3, CD7). No nosso caso, observamos também a expressão do antígeno citoplasmático CD79a (positivo em raros casos). Foi iniciado tratamento somente com prednisona (por causa do estado geral comprometido da doente e das evidências de grande massa tumoral) com boa resposta. Atualmente em tratamento com o protocolo hiperCVAD/ HD MTX-ara-c e, no momento, em remissão clínica. **Conclusão:** O caso apresentado chama a atenção pelo grau de disseminação da doença (provavelmente por causa do diagnóstico tardio). A citometria de fluxo é fundamental para o diagnóstico definitivo, já que a citoquímica e a morfologia não são capazes de fazê-lo.

320. TOLL-LIKE RECEPTOR 4 STIMULATION MODULATES GROWTH FACTORS INDEPENDENCE, PROLIFERATION, AND APOPTOSIS RESISTANCE IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Pereira WO^{a,b}, Amano MT^a, Santos FP^b, Mata EHA^b, Helman R^b, Puga RD^b, Hamerschlag N^b, Camara NOS^a, Campregher PV^b

^a Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Acute myeloid leukemia (AML) is a myeloproliferative disease characterized by expansion of CD34-positive hematopoietic

clones into bone marrow, with damaged hematopoiesis and subsequent invasion of other tissues. Although there are different types of AML, cytarabine is the standard treatment in most of the cases, and successful bone marrow transplantation constitutes the only possibility of cure. Mutation profiles and cytogenetic markers have been correlated with prognosis and drug response, but it is unclear which mechanisms regulate the AML development and evolution. Toll-like receptors (TLR) are able to recognize pathogen-associated and endogenous danger molecules, triggering pathways related to differentiation, activation, proliferation, and cell death modulation. A range of tumor cells express TLR and respond to their agonists, but the effect of TLR stimulation in AML is completely unexplored. In light of this background, and after finding highly expressed TLR4 in AML samples by methanalysis, the authors aimed to investigate the effects of TLR4 stimulation in AML cells. **Methods:** CD34-positive blasts from bone marrow of AML patients were sorted using magnetic beads. Taqman qPCR was used to confirm TLR4 expression. Cells were stimulated with different concentrations of LPS (20 ng/mL – 20 μ g/mL) and treated with cytarabine (5 μ M and 50 μ M) for 48 and 72 hours. Proliferation was assessed by cell trace violet decay and apoptosis was evaluated by DNA content evaluation. **Results:** This study confirmed that TLR4 is equally expressed in AML patient samples and PBMC from healthy donors. It was also observed that TLR4 stimulation protected leukemia cells from starvation-induced apoptosis after 72 hours, especially the higher doses of LPS, indicating that the TLR4 pathway contributes to growth-factors independence of leukemia cells. In addition, the proliferation of leukemia cells was drastically increased by LPS, once again a dose-dependent response ($p < 0.001$). Finally, AML cells presented increased resistance to cytarabine-induced apoptosis. **Conclusion:** TLR4 stimulation contributes to the tumorigenic process in AML, through positive modulation of proliferation and resistance to apoptosis under chemotherapy treatment. The mechanisms involved in this issue are under investigation. The present results suggest a potential association of leukemia evolution with episodes of infection, or even with the release of danger signals after tissue damage. **Funding:** FAPESP; PROADI/SUS.

321. INVESTIGAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DOS SUBSTRATOS DO RECEPTOR DE INSULINA (IRS) NA LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA

Alves APNR^a, Fernandes JC^a, Neto JAM^b, Góes A^a, Schiavinato J^a, Saad STO^b, Rego EM^a, Simões BP^a, Falcão RP^a, Traina F^a

^a Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A leucemia linfóide aguda (LLA) é uma neoplasia hematológica caracterizada pela proliferação clonal e diferenciação anormal dos progenitores linfóides, com conseqüente acúmulo de linfoblastos na medula óssea. A LLA se divide em dois grandes grupos: LLA B e LLA T, cada qual com suas características clínicas, morfológicas, imunofenotípicas, citogenéticas e moleculares. A via de sinalização IGF1R/IRS está relacionada ao desenvolvimento e progressão de múltiplas neoplasias. Essa via de sinalização se inicia por meio da ligação do ligante (IGF1) ao seu receptor transmembrana (IGF1R) e subsequente ativação de seus substratos, que incluem os substratos do receptor de insulina (IRS1 e IRS2). A via de sinalização IGF1R/IRS ativa a via PI3K/Akt/mTOR e MAPK/ERK e pode induzir transformação maligna. **Objetivo:** Investigar e comparar a expressão gênica dos principais substratos do receptor de insulina (IRS1, IRS2) e seus principais receptores (IGF1R, IR) em células hematopoéticas normais e em pacientes com LLA e comparar a expressão gênica entre os diferentes subtipos de LLA (LLA B vs LLA T, LLA BCR-ABL negativo vs LLA BCR-ABL positivo). **Material e métodos:** Selecionamos uma casuística de amostras de medula óssea de controles normais ($n = 8$) e de pacientes adultos com diagnóstico de LLA ($n = 43$) atendidos em nossa instituição. Os níveis de expressão de IGF1R, IR, IRS1 e IRS2 foram avaliados por meio da técnica de PCR em tempo real, conforme protocolo estabelecido no laboratório. As análises estatísticas foram feitas com o teste de Mann-Whitney para comparação da mediana da expressão dos genes entre dois grupos de pacientes. **Resultados:** A expressão gênica relativa de IGF1R e IRS2 foi significativamente me-

nor nos pacientes com LLA quando comparada com os controles normais (IGF1R, LLA: 0,33 [0,02–1,95] vs doadores normais: 0,82 [0,37–1,2], $p = 0,02$); (IRS2: LLA: 0,33 [0,006–2,89] vs doadores normais: 1,25 [0,64–2,08], $p = 0,004$). A expressão de IR e IRS1 foi semelhante entre controles normais e pacientes com LLA. A expressão de IR e IRS2 foi significativamente maior em pacientes com LLA B se comparada com a dos pacientes LLA T (IR: LLA B: 2,67 [0,52–11,67] vs LLA T: 0,36 [0,03–4,90], $p = 0,0004$); (IRS2: LLA B: 0,38 [0,04–2,89] vs LLA T: 0,2 [0,006–0,76], $p = 0,008$), enquanto a expressão de IGF1R e IRS1 foi semelhante entre esses dois grupos. Quando os pacientes foram estratificados em LLA BCR-ABL negativo e LLA BCR-ABL positivo, a expressão de IRS1 foi significativamente maior em pacientes LLA BCR-ABL negativo (0,123 [0,003–1,51]) em comparação com os pacientes LLA BCR-ABL positivo (0,03 [0,007–0,42]), $p = 0,05$, enquanto a expressão de IGF1R, IR e IRS2 foi semelhante entre esses dois grupos. A expressão de IGF1R apresentou correlação positiva com a expressão de IRS1 ($r = 0,37$, $p = 0,01$) e IRS2 ($r = 0,6$, $p < 0,0001$) nas amostras de LLA e a expressão de IR apresentou correlação positiva com IRS2 ($r = 0,62$, $p < 0,0001$). **Conclusão:** Os resultados indicam que os genes IGF1R, IR, IRS1 e IRS2 são modulados em LLA comparados com os controles normais e em diferentes subtipos de LLA. Entretanto, o significado biológico dessa modulação ainda permanece indefinido. Estudos de expressão/ativação proteica em células primárias de LLA e estudos funcionais são necessários para elucidar o significado biológico das proteínas codificadas por esses genes na fisiopatologia da LLA.

322. LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA/LINFOMA LINFOBLÁSTICO DE CÉLULAS B, IRA E HEMOGRAMA NORMAL: UMA RARA APRESENTAÇÃO

Barbosa MS, Tavares RS, Nahas LC, Veloso VP, Ataiades TL, Rezende JE, Paula HM, Lima GS, Silva RM, Rezende DC, Nascimento GR

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: Manifestações renais em doenças hematológicas são relativamente comuns, observadas em até 10% dos casos. Na leucemia aguda (LA), complicações renais ocorrem por causa de vários fatores, incluindo distúrbios pré-existentes, drogas nefrotóxicas, septicemias, infiltração leucêmica dos rins e efeitos secundários ligados às terapias, tais como síndrome de lise tumoral. Alterações renais como manifestação inicial pura da doença são, contudo, raras. Na leucemia linfóide essa manifestação é ainda mais rara. **Relato de caso:** K.M.d.F., 19 anos, sexo masculino, iniciou um mês antes da admissão com dor lombar e havia uma semana com edema difuso, períodos de agitação intercalados com sonolência. A partir daí iniciou com febre e picos hipertensivos. Exames demonstraram ureia: 124 e creatinina: 6,1, ácido úrico: 17,3, hemograma e EAS dentro dos padrões da normalidade. USG de rins e vias urinárias mostrou rins de tamanho aumentado. Optou-se por fazer pulsoterapia e terapia dialítica, assim como biópsia renal e exames de imagem. TC de abdome com imagem expansiva que circunscruvia tronco celiaco e favorecia o diagnóstico de doença linfoproliferativa. Biópsia renal processo linfoproliferativa de células intermediárias a grandes, com características de alto grau. A partir daí, durante estada clínica, o paciente iniciou com linfocitose e plaquetopenia. Mielograma com 70% de blastos tipo I e imunofenotipagem, células precursoras da linhagem linfóide B CALLA positivo com expressão do antígeno CD13, compatível com leucemia linfóide aguda/linfoma linfoblástico. Cariótipo sem crescimento, BCR-ABL negativo, imunofenotipagem de líquido sem infiltração neoplásica e HLA familiar compatível. Iniciada quimioterapia com HyperCVAD com recuperação completa do quadro renal em 15 dias. Após primeiro ciclo, reavaliação medular com resposta completa e doença residual mínima negativa. Segue quimioterapia enquanto aguarda vaga para transplante de medula óssea. **Discussão:** A insuficiência renal aguda é uma complicação bem reconhecida de leucemias agudas. No entanto, insuficiência renal grave causada por infiltração leucêmica como uma manifestação primária é incomum e de difícil diagnóstico. A IRA nesses casos precisa infiltrar os dois rins, está geralmente associada a hematúria, proteinúria e rins de tamanho aumentado. A combinação de IRA, hiperuricemia e sintomas constitucionais, como febre, torna obrigatória a biópsia renal, com o intuito de diagnosticar possíveis alterações estruturais ou mesmo processos infiltrativos. O prognóstico renal depende da resposta ao tratamento do tumor e o tamanho renal não parece ter valor nessas situações. A terapia específica deve ser prontamente instituída e tais tumores são altamente sensíveis.

323. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E CLÍNICO DOS PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA DO SERVIÇO DE ONCOLOGIA DO HOSPITAL DE URGÊNCIA DE SERGIPE

Bonfim JGV^a, Santana RNS^a, Oliveira LGS^a, Macena AM^a, Baroneza JE^b, Cazzaniga RA^a, Octacílio-Silva S^a

^a Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, Brasil

^b Universidade Positivo, Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A leucemia é a neoplasia mais comum na infância e grande causa de óbito entre crianças e adolescentes. O tipo que mais acomete crianças é a leucemia linfóide aguda (LLA). Trabalhos anteriores mostram relação entre o perfil socioeconômico e a progressão da doença. **Objetivo:** Conhecer o perfil de LLA em Sergipe, para uma abordagem mais específica tanto em nível hospitalar quanto extra-hospitalar. **Material e métodos:** Foram feitas entrevistas com 83 pacientes ou seus responsáveis no Serviço de Oncologia do Hospital de Urgência de Sergipe de janeiro de 2012 a dezembro de 2013 e coletas de dados clínicos dos prontuários médicos. Os dados foram analisados por estatística descritiva. Este trabalho está registrado no comitê de ética da UFS sob número 02342812.1.0000.0058. A relação masculino:feminino foi 1,24:1 e 84% dos pacientes são crianças e adolescentes, como esperado. Dos pacientes, 53% ($n = 44$) tinham entre um a 10 anos no momento do diagnóstico e 47% ($n = 39$) menos de um ano ou mais de 10. Essa última faixa está correlacionada com o pior prognóstico. A média de idade foi de 12,7 anos e DP 13,5 a. Dos pacientes, 22,9% ($n = 19$) procedem de Aracaju, 62,6% ($n = 52$) do interior de Sergipe e 14,5% ($n = 12$) da Bahia. **Resultados:** Os principais sintomas foram: apatia, fraqueza e palidez (90%), febre (86%), perda de peso (78%) e dores articulares e náusea (70%). Ao diagnóstico, 41% ($n = 34$) apresentavam leucopenia; 61,4%, anemia; e a maioria (38,5%), plaquetas normais; os dados não constavam em 29% dos prontuários. Além disso, 42,2% ($n = 35$) dos pacientes apresentavam acima de 80% de blastos; o dado não constava em 47% dos prontuários. O tratamento se deu por quimioterapia oral e intravenosa. Dois pacientes (2,4%) fizeram transplante de medula óssea. Com relação ao status vital, 53% ($n = 44$) estão em tratamento, 20,5% ($n = 17$) foram a óbito e 26,5% ($n = 22$) estão fora de tratamento. Desses últimos, que atingiram remissão completa, 38,5% ($n = 10$) têm SLD maior do que cinco anos; 12% dos pacientes apresentam SLD > 5, uma porcentagem menor do que tem sido reportado. De acordo com os registros nos prontuários, 10 pacientes tiveram recidiva, dado que não constava em 14 prontuários; desses, seis tiveram recidiva após o término do tratamento. **Discussão:** A LLA é o tipo de leucemia e de neoplasias mais comum em crianças e adolescentes. Em Sergipe, a maior frequência é no sexo masculino e entre um e 10 anos. Dos pacientes entrevistados, a maioria se encontra em tratamento e mais da metade tem idade favorável a um bom prognóstico, porém existe grande variabilidade da evolução clínica da doença, como observado pelos dados aqui demonstrados. **Conclusão:** A escassez de dados sistemáticos sobre o registro de pacientes reflete na impossibilidade de se obter a incidência de LLA em Sergipe; e, nos prontuários, não permitiu um maior aprofundamento sobre a origem clínica da variabilidade dessa doença.

324. USO DA CITOGENÉTICA CONVENCIONAL NA DETECÇÃO DE ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS RARAS EM PACIENTES COM NEOPLASIA MIELOIDE

Silva FB^a, Vivaldo JF^a, Ratis CA^b, Bertini VHLL^a, Pontes LLF^a, Calado RT^a, Falcão RP^a, Rego EM^a, Velloso ED^{b,c}, Traina F^a

^a Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Laboratório de Citogenética, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

^c Serviço de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A citogenética convencional tem fornecido conhecimentos fundamentais para a patogênese de diversas doenças hematológicas na detecção de alterações cromossômicas balanceadas e não balanceadas. Alterações cromossômicas adquiridas são marcadores prognósticos bem estabelecidos em neoplasias mieloides. **Objetivo:** Descrever alterações cromossômicas pouco frequentes e a determinação da heterogeneidade clonal por meio da citogenética metafásica convencional de medula óssea de pacientes com neoplasia mielóide: síndromes mielodisplásicas (SMD), neoplasia mieloproliferativa (NMP) e leucemia mielóide aguda

(LMA) atendidos no HC-FMRP-USP. **Relatos de caso:** 1) Homem, 29 anos, diagnóstico de SMD, classificação OMS 2008 CRDM, cariótipo após oito meses de seguimento: 47,XY,+Y[19]/46,XY[1]. 2) Homem, 58 anos, diagnóstico de SMD ARSA, cariótipo após 18 meses de seguimento: 46,XY,t(2;11)(p21;q23)[17]/46,XY[3]. 3) Homem, 66 anos, SMD AREB-2, cariótipo ao diagnóstico: 46,XY,-7,del(20)(q11)x2[19]/46,XY[1]. 4) Homem, 82 anos, LMA com alterações mielodisplásicas, cariótipo ao diagnóstico: 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2),del(20)(q11)[2]/46,idem,add(7)(q22)[6]/47,idem,add(7)(q22),+19[16]; presença do gene de fusão BCR-ABL p190 confirmada por PCR. 5) Homem, LMA com diferenciação monocítica, cariótipo ao diagnóstico: 47,XY,+8,del(9)(q21),t(10;11)(p13;q21)[20]. 6) Mulher, 57 anos, SMD/NMP, LMMC-1, cariótipo após um ano de seguimento: 47,XX,+1,add(1)(p22)[7]/48,XX,+8,+9[6]/46,XX[7]; JAK2 V617F e BCR-ABL negativos. 7) Mulher, 68 anos, NMP, mielofibrose primária fase fibrótica, cariótipo ao diagnóstico: 46,XX,dup(1)(q21q32)[17]/46,XX[3]; JAK2 V617F e BCR-ABL negativos. 8) Homem, 70 anos, NMP, mielofibrose primária fase pré-fibrótica, cariótipo ao diagnóstico: 47,XY,+13[19]/46,XY[1]; JAK2 V617F e BCR-ABL negativos. 9) Homem, 62 anos, diagnóstico de NMP, mielofibrose havia três anos, JAK2 V617F e BCR-ABL negativos, submetido a TMO alogênico em 2013, sem resposta hematológica. No dia + 139 pós-TMO apresentou cariótipo 46,XY,t(12;15)(q24;q24)[7]/45,XY,t(6;9)(q21-24;q31),-17[4]46,XY[3]/46,XX[6]; evoluiu com transformação leucêmica cinco meses após a avaliação do cariótipo. **Discussão:** Destaca-se a detecção do cromossomo Filadélfia em um caso de LMA com alterações mielodisplásicas (caso 4), a detecção de subclones nos casos 4 e 6 e a detecção de dois clones no caso 9. A técnica de citogenética convencional apresenta limitações, incluindo a necessidade de divisão celular e a baixa sensibilidade, que depende da proporção de células clonais na amostra examinada. No entanto, essa metodologia ainda é considerada padrão ouro na detecção de alterações cromossômicas. Em neoplasias, a heterogeneidade clonal tem sido implicada como um mecanismo que direciona o desenvolvimento e a progressão tumoral. **Conclusão:** Os casos aqui apresentados reforçam a importância do cariótipo convencional, que deve ser mantido como padrão ouro no diagnóstico, e da estratificação de risco em pacientes com neoplasia mielóide. Novas ferramentas moleculares podem adicionar à citogenética, mas nenhum outro método é capaz de detectar todas as alterações visualizadas por meio da citogenética metafásica convencional.

325. ASSOCIAÇÃO ENTRE TRANSLOCAÇÕES CROMOSSÔMICAS (8;16)(P11;Q13) E (11;16) (Q23;P13) COM HEMOFAGOCITOSE PELAS CÉLULAS BLÁSTICAS EM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA – RELATO DE DOIS CASOS

Silveira MP, Canuto DKS, Ferreira FM, Mattos VRP, Hamerschlag N, Velloso EDRP, Silveira PAA

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Os casos de leucemia mieloide aguda (LMA) com translocação t(8;16)(p11;q13) são caracterizados por eritrofagocitose pelas células blásticas monocitoides e mau prognóstico. A translocação t(8;16)(p11;q13) resulta na fusão do gene MOZ (*monocytic leukemia zinc finger*), atual KAT6A, localizado no cromossomo 8p11, com o gene CREBBP (*CREB binding protein*), localizado no cromossomo 16p13. Essas proteínas têm uma atividade histona acetiltransferase; estão envolvidas no controle do ciclo celular e na regulação da transcrição. Ambos os genes da t(8;16) são conhecidos por envolvimento em outros rearranjos balanceados raros, todos associados com prognóstico adverso: MOZ na t(8;19)(p11;q13), t(6;8)(q27;p11), t(8;22)(p11;q13) e inv8(q11p13); CREBBP na t(10;16)(q22;p13) ou t(11;16)(q23;p13), respectivamente. **Objetivo:** Descrever dois casos de LMA, o primeiro com a t(11;16) e o segundo com a t(8;16). **Relatos de caso:** 1) Masculino, 73 anos, diagnóstico de mielofibrose em julho de 2011, cariótipo inicial com trissomia 8, tratado com talidomida. Após dois anos evoluiu para LMA, medula óssea (MO) com 81% de blastos monocitoides, alguns com hemofagocitose de eritrócitos, granulócitos e hemácias. Imunofenotipagem confirmou leucemia mielomonocítica aguda. O cariótipo revelou t(11;16), estudo por Fish com sonda MLL *breakapart* mostrou rearranjo MLL, atual KMT2A. Recebeu quimioterapia (QT) esquema com D3A7 e após o segundo ciclo da QT apresentou remissão hematológica, imunofenotípica e desaparecimento da t(11;16). Após três meses do início do tratamento, apresentou recaída, com 64% de blastos mielóides em MO e cariótipo 48,XY,+8,+9,t(11;16)(q23;p13.3)[20]. Foi tratado com decitabina, porém evoluiu com progressão da doença, morbidades secundárias e óbito após um ano do diag-

nóstico. 2) Masculino, 72 anos, com diagnóstico prévio de leucemia mielomonocítica crônica e cariótipo normal, assintomático, sem indicação de tratamento. Evoluiu após quatro anos com 53% de blastos em MO, diagnosticado como leucemia mielomonocítica aguda, confirmado pela imunofenotipagem. O cariótipo apresentou a t(8;16). Morfológicamente os blastos eram de médio porte e fagocitavam células hematológicas das três linhagens. Recebeu tratamento com D3A7 com remissão hematológica, imunofenotípica e citogenética curta, com recaída da leucemia após o segundo ciclo. Recebeu tratamento com azacitidina, porém manteve progressão da doença e foi a óbito após cinco meses do diagnóstico de LMA. **Discussão:** Rearranjos cromossômicos levam a fusões gênicas específicas e definem distintas subclasses com relevâncias biológicas e prognósticas. O rearranjo do gene CREBBP provavelmente envolvido nessas duas translocações pode tanto ocorrer na leucemia monocítica de novo quanto na LMA relacionada ao tratamento e, de acordo com a literatura, o prognóstico é sombrio em ambos os casos. **Conclusão:** Identificamos uma hemofagocitose marcante pelas células blásticas, incluindo fagocitose de células granulocíticas, eritroblastos, eritrócitos e plaquetas. O achado de blastos fagocitando células hematológicas em leucemias agudas é incomum e pode sugerir já na avaliação morfológica anormalidades citogenéticas específicas.

326. ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS NA LEUCEMIA DE CÉLULAS T DO ADULTO (ATLL) – RELATO DE CASO

Cordeiro AC^{a,b}, Cordeiro MG^c, Miotti ABS^c, Lage LAPC^{a,b}, Pereira J^{a,b}, Velloso EDRP^{a,b}

^a Serviço de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP), São Paulo, SP, Brasil

^c Laboratório de Citogenética, Serviço de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Anormalidades citogenéticas são importantes no entendimento da fisiopatologia e na definição prognóstica em várias neoplasias hematológicas. Entretanto, são menos descritas e compreendidas na ATLL. **Objetivo:** Relatar a história clínica e o estudo cariotípico de um paciente com ATLL forma aguda. **Relato de caso:** Masculino, 34 anos, negro, natural de São Paulo, previamente hígido, com astenia nos últimos seis meses e diagnóstico recente de pneumocistose. Exames laboratoriais revelaram anemia (Hb 4,9 g/dL), leucocitose de 66.280 mil/mm³, com 22.540 mil/mm³ linfócitos polimórficos com alguns elementos imaturos, plaquetas 333 mil/mm³, hipercalcemia (cálcio iônico de 6,91 mg/dL), desidrogenase láctica elevada (778 U/L, valor de referência 240 a 480), sorologia positiva para HTLV-1 e hepatite C. A imunofenotipagem de sangue periférico apresentava 98% de células linfóides T (CD3⁺⁺, CD4⁺⁺, CD5⁺⁺, CD8⁻) com coexpressão do antígeno CD25. Demonstrou-se ainda a presença de população monoclonal para o gene gama do receptor de células T. O cariótipo mostrou-se pseudo diploide e complexo: 46,XY,t(3;6)(q29;q13),del(7)(q32),del(8)(q22),i(17)(q10),add(22)(q12)[12]/46,XY,t(3;6)(q29;q13),del(4)(q31),add(22)(q12)[7]/46,XY. Recebeu o diagnóstico de ATLL forma aguda. Foi tratado inicialmente com interferon + zidovudina, sem resposta, e iniciada poliquimioterapia com Choep. Veio a óbito cerca de quatro meses após o diagnóstico. **Discussão:** Os poucos dados da literatura mostram que o cariótipo da ATLL frequentemente é variável e com múltiplas alterações. Itoyama et al. (2001), em estudo citogenético de 50 pacientes com ATLL, mostrou que o maior número de anormalidades estruturais (“quebras”) era mais frequente no subgrupo agudo e linfomatoso e nos pacientes com idade avançada. As alterações citogenéticas relacionadas a pior prognóstico incluíram: múltiplas “quebras” (no mínimo seis) e anormalidades nos cromossomos 1p, 1q, 2q, 3q, 9p, 10p, 12q, 14p, 14q e 17q. Translocações que envolvem 14q32 (locus do gene do TCR delta) já foram apontadas como uma das anormalidades recorrentes mais frequentes da ATLL. As alterações numéricas mais frequentes na ATLL são: trissomia do 3, trissomia do 21, monossomia do X, perda do Y, trissomia do 7. Uma das explicações para a instabilidade cromossômica na ATLL é a proteína Tax. A Tax é uma das principais proteínas expressas pelo HTLV e inibe a expressão da polimerase-beta, enzima envolvida com reparo do DNA, além de levar a inativação da telomerase. Isso corrobora a teoria de que a leucemogênese na ATLL é um processo *multistep*. **Conclusão:** Ainda não se sabe se pode haver impacto da citogenética para guiar a terapêutica. São necessários mais estudos nesse campo.

327. DETECÇÃO DE ALTERAÇÕES SUBMICROSCÓPICAS EM PACIENTES COM LLA-B E CARIÓTIPO NORMAL ATRAVÉS DE ACGH/SNPS

Campos CB^a, Melo CPS^a, Fenelon AJS^b, Ramos LV^c, Mateo EC^d, Ferreira ACS^d, Assumpção JG^a

^a Laboratório Biocod Tecnologia em Genética, Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Hospital Santa Casa de Misericórdia, Belo Horizonte, MG, Brasil

^c Setor de Citogenética, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil

^d Setor de Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: Nas últimas décadas a análise citogenética tornou-se essencial para o diagnóstico e a estratificação dos pacientes com leucemia linfoblástica aguda de linhagem B (LLA-B). Contudo, cerca de 30% dos pacientes não apresentam alteração e a base genética da doença permanece desconhecida. O uso da técnica de hibridização genômica comparativa em **Arrays** (aCGH ou CGH **Array**) constitui uma ferramenta poderosa para detectar alterações submicroscópicas nesses casos. **Objetivo:** Avaliar amostras de medula óssea e/ou sangue periférico de oito pacientes (dois adultos e seis crianças) portadores de LLA de linhagem B e cariótipo normal pela técnica de aCGH. Foi usada a lâmina Sure Print G3 Cancer CGH+SNP 4x180K Microarray na plataforma da Agilent Technologies. Os dados foram analisados com o software CytoGenomics Edition 2.9.2.4 e foram incluídas na análise as variações no número de cópias (CNVs) acima de 100 Kb. Os parâmetros de qualidade adotados foram: DerivativeLR_Spread (DLRS) \leq 0,24, Waviness $<$ 0,35 e Log Ratio $>$ -0,8 e $<$ 0,8. Além disso, foi considerada, no mínimo, hibridização de quatro sondas para as respectivas CNVs. **Resultados:** Todos os pacientes apresentaram alterações no cromossomo 14. As mais comuns envolviam as famílias gênicas de cadeia pesada de imunoglobulinas (IgH) e do receptor olfatório (ORs). Nesses casos, essas CNVs provavelmente refletem mecanismos de rearranjos gênicos característicos desses loci. Seis pacientes (75%) apresentaram alterações em 4q13 que incluíam o gene UGT2B4 supostamente associado a tumores sólidos e/ou em 10q26.3 que incluíam genes do tipo **double homeobox 4 like - DUX4L**. Outras alterações frequentes foram a deleção de 10q11.22, duplicação de 11p15.5 e deleção de 15q11.2 (50% cada). A maior CNV esteve representada pela deleção de 1p36.11-1p35.3 (37,5% dos casos). Essa deleção inclui uma série de genes que participam do controle do ciclo celular (CNKSR1, RPS6KA1, STX12, SESN2 e GMEB1), além de genes que já foram relacionados com processos neoplásicos (UBXN11, FGR, LIN28A, THEMIS2, HMG2, ARID1A, SFN, NUDC, WASF2, IFI6 e RCC1). **Conclusão:** As alterações submicroscópicas mais frequentes em LLA-B podem estar associadas ao descobrimento de novos genes que poderiam explicar a etiologia e/ou a progressão da doença. Contudo, esses resultados devem ser interpretados com cautela. Apenas com o aumento do número de pacientes avaliados seria possível ter uma melhor ideia da instabilidade genômica.

328. EXPRESSÃO ELEVADA DE B-CATENINA E C-MYC EM PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA

Fernandes JC^a, Alves APNR^a, Machado-Neto JA^b, Yamada ASGL^a, Saad STO^b, Falcão RP^a, Rego EM^a, Simões BP^a, Traina F^a

^a Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A leucemia linfóide aguda (LLA) compreende um grupo heterogêneo de neoplasias caracterizadas por proliferação clonal aberrante e bloqueio da diferenciação de células precursoras linfóides B ou T. A LLA é o câncer mais comum na infância, com probabilidade de cura de mais de 90%. Em adultos, a LLA é menos comum, porém é associada a um pior prognóstico e com altas taxas de recaída. A beta-catenina é uma proteína fundamental na adesão célula-célula e na transdução de sinais celulares. Em sua forma citoplasmática, quando dissociada dos componentes do complexo aderente, a beta-catenina é degradada pela fosforilação de sua porção N-terminal. Em certas circunstâncias, por exemplo, na via de sinalização Wnt, a beta-catenina é estabilizada e

transferida para o núcleo, onde se liga a membros da família de fatores de transcrição Tcf-Lef (**T-cell factor-lymphoid enhancer factors**) e ativa a transcrição de genes que regulam a diferenciação, a proliferação e o ciclo celular. Um dos genes regulados pela beta-catenina é o **c-myc**, cujo aumento da expressão está associado a diversas neoplasias humanas, incluindo as hematopoéticas. A **beta-catenina** e o **c-myc**, quando mutados e/ou com expressão elevada, podem atuar como oncogenes e contribuir para o processo neoplásico. Entretanto, a expressão desses genes em LLA ainda é pouco estudada. **Objetivo:** Estudar e comparar a expressão da **beta-catenina** e do **c-myc** em doadores normais e pacientes adultos com LLA e entre pacientes com LLA de origem B e T. **Material e métodos:** Foram usadas amostras de medula óssea de doadores normais (n = 10) e de sangue periférico ou medula óssea de pacientes com LLA (n = 45) atendidos em nossa instituição. A expressão gênica foi avaliada por PCR quantitativo em tempo real no aparelho 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems) com SybrGreen PCR Master Mix (Applied Biosystems). Cada iniciador teve sua concentração padronizada para o estudo. Usamos a expressão da **actina** como controle endógeno. As análises estatísticas foram feitas com o GraphPadInstat 5 e o teste de Mann-Whitney foi usado para comparação da mediana da expressão dos genes de interesse entre doadores normais e pacientes com LLA. **Resultados:** A expressão relativa do gene da **beta-catenina** e do **c-myc** foi significativamente maior em pacientes com LLA, quando comparada com a dos doadores normais (**beta-catenina**, LLA: 1,39 [0,41-5,85] vs doadores normais: 0,94 [0,11-1,41], p = 0,01); (**c-myc**, LLA: 2,50 [0,12-41] vs doadores normais: 0,38 [0,03-1,21], p = 0,0003). Além disso, observamos uma correlação positiva entre a expressão da **beta-catenina** e a expressão do **c-myc** (p < 0,0001, r = 0,56). Não foram encontradas diferenças significativas entre a expressão da **beta-catenina** e do **c-myc** quando os pacientes com LLA foram estratificados em função da origem B ou T (**beta-catenina**: LLA B: 1,82 vs LLA T: 1,38, p = 0,17; **c-myc**: LLA B: 2,76 vs LLA T: 1,95, p = 0,08). **Conclusão:** A **beta-catenina** e o **c-myc** apresentaram expressão significativamente elevada em LLA comparadas com os controles normais, assim como já descrito na literatura para outros tipos de câncer. Além disso, a correlação positiva sugere que a **beta-catenina** se liga aos fatores de transcrição e influencia na expressão do **c-myc** durante condições anormais da LLA.

329. PSEUDOTUMOR CEREBRAL RELACIONADO AO ÁCIDO TRANSRRETINOICO EM PACIENTE ADULTA COM LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA – RELATO DE CASO

Ribeiro MR, Passos J, Riani LR, Bello RD, Ramires J, Britto L, Mattosinho C, Gonzaga Y

Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: O pseudotumor cerebral (PC) é uma síndrome rara. Caracteriza-se por sinais e sintomas de hipertensão intracraniana, como papiledema, cefaleia, náuseas, vômitos e diplopia, com exames de imagem e avaliação líquórica normais. Se não tratada, pode levar a edema do disco óptico, atrofia óptica progressiva e cegueira. Diversas condições, como apneia do sono, gravidez e disfunção tireoideana, foram implicadas como fatores de risco para PC, assim como algumas medicações (contraceptivos orais, antibióticos, lítio, hormônios tireoideanos e corticosteroides). A associação do PC com o ATRA é descrita, mas a maior parte dos casos ocorre em pacientes pediátricos. **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente de 33 anos com leucemia promielocítica aguda (LPMA) que desenvolveu PC induzido pelo ATRA durante a fase de consolidação. **Relato de caso:** Paciente feminina, 26 anos, diagnóstico de LPMA em fevereiro de 2014, estratificada como baixo risco. Iniciado tratamento com ATRA e Idarubicina, conforme protocolo AIDA 2000. Durante a indução, apresentou síndrome de diferenciação pelo ATRA, neutropenia febril prolongada e sinusite fúngica por *Curvularia sp*, tratada com voriconazol. Em junho, durante a terceira consolidação, evoluiu com redução da acuidade visual, inicialmente atribuída ao uso do antifúngico, que foi suspenso. Não houve melhoria do quadro e a paciente evoluiu com estrabismo convergente. TC de crânio não evidenciou sangramento ou lesão expansiva. Análise do líquido não mostrou infiltração leucêmica ou qualquer outra anormalidade. Feita fundoscopia, que evidenciou papiledema bilateral. Feito diagnóstico presuntivo de PC induzido pelo ATRA e instituído tratamento com acetazolamida, furosemida e punção lombar de alívio, além de suspensão do ATRA. Após cerca de duas semanas, houve reversão completa dos sintomas e

dos achados oftalmológicos. **Discussão:** A LPMA caracteriza-se por apresentar a t(15;17) e seu produto, o PML-RARA, gera um fenótipo caracterizado pela proliferação de precursores mielóides com parada maturativa a nível de promielócitos e tendência hemorrágica. Esses pacientes podem apresentar sintomas neurológicos, principalmente por causa de hemorragia ou infiltração do sistema nervoso central. A introdução do ATRA no tratamento mudou a história dessa patologia e tornou a LPMA a mais curável entre as leucemias mielóides agudas. Entretanto, o uso do ATRA está associado a diversos efeitos adversos, entre eles o PC, cujo diagnóstico precoce é fundamental para início de terapia específica, com a suspensão da medicação e início de inibidores da anidrase carbônica e furosemida, que impedem a deterioração neurológica e o déficit visual permanente. A TC de crânio e a análise do líquor são fundamentais para o diagnóstico diferencial com hemorragia e infiltração do SNC. **Conclusão:** PC é uma complicação rara que pode ocorrer durante o tratamento com ATRA, até em pacientes adultos. É necessário um alto índice de suspeição clínica para que o diagnóstico seja feito e a terapia instituída a tempo de evitar sequelas neuro-oftalmológicas permanentes.

330. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E CLÍNICO DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA DO HOSPITAL DE URGÊNCIA DE SERGIPE (HUSE)

Santana FP^a, Oliveira LGS^a, Santana RNS^a, Macena AM^a, Baroneza JB^b, Cazzaniga RA^a, Octacílio-Silva S^a

^a Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, Brasil

^b Universidade Positivo, Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia do tecido hematopoietico e caracteriza-se pelo crescimento descontrolado e exagerado de células mielóides. **Objetivo:** Obter um panorama descritivo epidemiológico e clínico, a fim de contribuir com a sistematização dos dados dessa doença no estado. **Material e métodos:** Dados socioeconômicos e clínicos foram coletados de 42 pacientes com LMA entre janeiro de 2012 e dezembro de 2013 no Serviço de Oncologia do Hospital de Urgência de Sergipe, por meio de entrevistas e nos prontuários. A análise de dados foi descritiva. **Resultados:** Entre os pacientes entrevistados, a relação sexo masculino:feminino foi de 0,9:1; normalmente, é reportada uma predominância do sexo masculino. A média de idade foi 39,6 anos DP 8,7 a., o que demonstra uma precocidade da doença em relação a outros países. Os dados socioeconômicos demonstram: residência - 64,3% (n = 27) do interior de Sergipe; transporte ao serviço - 71,4% (n = 30) recursos próprios; renda familiar - 80,9% (n = 34) até dois salários mínimos; escolaridade - 54,8% (n = 23) até o ensino fundamental completo e 45,2% (n = 19) acima de nível médio. As menores rendas familiares correlacionam-se com moradia no interior e menor escolaridade. Dos pacientes, 59,5% (n = 25) foram encaminhados ao HUSE a partir de órgãos públicos. Esses dados demonstram uma dependência desses pacientes dos serviços de saúde públicos. Dos pacientes, 97,6% (n = 41) apresentaram sintomas da doença anteriormente relatados na literatura e os mais frequentes foram apatia (n = 27), palidez (n = 26) e petéquias (n = 18); 69% dos pacientes (n = 29) apresentaram efeitos colaterais à quimioterapia, entre eles tontura (n = 3), vômito (n = 6) e náuseas (n = 20). Em relação à classificação FAB, a mais comum é LMA M3, em 33,3% (n = 11) dos pacientes com o dado disponível; em 21,4% esse dado não foi encontrado. A LMA M3 correlaciona-se com bom prognóstico e 63,6% dos pacientes com LMA M3 estão fora de tratamento. Foi possível encontrar o tipo de LMA em 32 prontuários. Desses, 81,2% apresentaram LMA de novo. Em 52,4% (n = 22) dos prontuários não foi possível encontrar alterações citogenéticas; entre os que constavam, 40% (n = 8) não apresentaram alterações e a alteração mais frequente foi t(15;17), com 15%; 9,5% (n = 4) dos pacientes foram submetidos a transplante, que é feito em outros estados; 40,5% (n = 17) estavam fora de tratamento; 30,9% (n = 13) estavam em tratamento e 28,6% (n = 12) foram a óbito. Todos os pacientes submetidos a transplante estavam fora de tratamento. **Conclusão:** A LMA em Sergipe apresenta um perfil condizente principalmente com estudos nacionais. A maioria dos pacientes está em remissão da doença, apresenta LMA de novo, de classificação FAB M3, sem alterações citogenéticas. A escassez de dados sistematizados de registro de entrada dos pacientes, assim como de dados nos prontuários, não permitiu um aprofundamento das análises feitas, porém configura-se em um princípio de organização de dados, que é importante, uma vez que esse serviço é o registro de base do INCA.

331. NEOPLASIAS DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITOIDES BLÁSTICAS – CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, MORFOLÓGICAS E IMUNOFENOTÍPICAS

Oseki KT, Maekawa YH, Tamashiro N, Takao TT, Ritter EC, Marrese DG, Silva ACT, Sousa FA, Goncalves MV, Rizzatti EG, Sandes AF

Setor de Citometria de Fluxo, Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (NCDPB) é uma doença clinicamente agressiva, que se origina da proliferação clonal de células dendríticas plasmocíticas e seus precursores. É uma neoplasia rara, representa menos do que 1% e 0,7% das leucemias agudas e dos linfomas cutâneos, respectivamente. A maioria dos pacientes é adulta e a doença geralmente aparece após os 50 anos, embora alguns casos tenham sido descritos na infância. A baixa incidência dificulta uma melhor caracterização clínica e laboratorial, o que torna extremamente importante o relato de casos diagnosticados com a doença. **Objetivo:** Determinar a frequência da NCDPB em nosso serviço e descrever os principais aspectos clínicos, citomorfológicos e imunofenotípicos. **Material e métodos:** Foram diagnosticados 19 casos de NCDPB em nosso laboratório de 2007 a 2014. O exame citomorfológico foi feito por meio da análise do esfregaço de aspirado de medula óssea (MO) e/ou sangue periférico (SP) em microscópio de luz. Citometria de fluxo foi feita em amostras de MO e SP com um amplo painel de anticorpos monoclonais. **Resultados:** A mediana de idade foi de 66 anos (9-92), seis eram do sexo feminino e 13 do masculino. Entre os pacientes, 16 eram adultos e três eram crianças em fase escolar. Lesões cutâneas foram descritas em 8/14 pacientes (57%) e adenomegalia em quatro (21%). Análise morfológica detectou média de 60% de blastos (15-95), que apresentavam cromatina frouxa, um ou mais nucléolos evidentes, citoplasma basofílico e ausência de grânulos e, em sua maioria, com cadeias de vacúolos citoplasmáticos submembranosos semelhante a um "colar de pérolas". Todos os casos apresentaram a expressão de CD4, CD123⁺⁺⁺ e HLA-DR. O antígeno CD56 foi amplamente expresso, negativo em apenas um caso. A análise imunofenotípica detectou ausência de antígenos determinantes de linhagem mieloide (MPO, CD64 e CD14), linfóide B (CD19 e CD20) e linfóide T (CD3). O antígeno CD34 não foi expresso e apenas um caso apresentou ausência de CD45. No entanto, os antígenos mielóides CD33 e CD117 foram expressos em, respectivamente, 44% e 17% dos pacientes; os marcadores linfóides B CD22, CD79a e CD10 foram detectados em 43%, 14% e 16% dos casos; os antígenos linfóides T CD7, CD2 e CD5 em 53%, 22% e 12% dos casos, respectivamente; e o TdT nuclear foi expresso em 31,5% dos casos. O antígeno CD38 foi positivo em 78% dos 14 casos em que foi usado. Não foi encontrada expressão de antígenos específicos para células NK, como CD16 e CD57. O antígeno TCL1, um marcador recentemente descrito como específico de linhagem dendrítica, foi positivo para 8/9 casos. **Discussão:** Os casos descritos no presente estudo representam a maior série descrita na literatura nacional até o presente momento. O diagnóstico de NCDPB é complexo e requer um alto índice de suspeita clínica, o reconhecimento de características morfológicas específicas e o uso de um amplo painel de anticorpos monoclonais por citometria de fluxo, incluindo marcadores específicos da linhagem dendrítica, como o CD123 e TCL1. **Conclusão:** Embora esse subtipo de leucemia não apresente expressão de marcadores determinantes de linhagem mieloide e linfóide, a expressão de alguns antígenos dessas linhagens, especialmente os CD33, CD22, TdT e CD7, é relativamente frequente e pode confundir o diagnóstico correto.

332. IMPORTÂNCIA PROGNÓSTICA DA AVALIAÇÃO CITOGENÉTICA E MOLECULAR NA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Fernandes EMSA, Pagnano KBB, Duarte BK, Ramos CF, Paul P, Assunção PM, Oliveira LC, Lorand-Metze I

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

Introdução: A análise citogenética e molecular na leucemia mieloide aguda (LMA) permite traçar informações prognósticas que são usadas para estabelecer um tratamento baseado na estratificação de risco. Há grande heterogeneidade na evolução do grupo intermediário, particularmente naqueles com cariótipo normal. Uma melhor estratificação pode identificar os pacientes com maior risco de recaída e auxiliar na programação terapêutica. **Material e métodos:** Análise retros-

pectiva de 72 pacientes com LMA (excluindo-se leucemia promielocítica). Foram avaliados ao diagnóstico: sexo, idade, hemograma, cariótipo e as mutações do FLT3 (ITD e TKD) e NPM1. Os casos foram classificados pelo risco citogenético e molecular. Foi avaliada a taxa de remissão completa, sobrevida global e livre de doença. **Resultados:** Dos pacientes, 36% eram do sexo masculino. A mediana de idade foi de 54 anos (20-83) e a da sobrevida global de 105 dias. Hemoglobina mediana: 9 g/dL, leucócitos de $21,88 \times 10^9/L$ (1,18-348) e plaquetas de $39 \times 10^9/L$. Classificação FAB: M0 = 10%, M1 = 21,7%, M2 = 30,4%, M4 = 20,2%, M5 = 10%, M6 = 4% e M7 = 3%. O tratamento foi baseado na performance status e na idade; 62% foram submetidos a quimioterapia de indução (33% com TAD9 e 29% com 3+7) e 38% a outros esquemas (incluindo ARA-C subcutâneo, ETI ou apenas suporte transfusional). Remissão completa foi observada em 48% e desses, 20% recaíram. Segundo o risco citogenético e molecular, 30% dos pacientes foram favoráveis, 49% intermediários e 21% desfavoráveis. A pesquisa da mutação do FLT3 foi positiva em 20,5% dos casos (13,2% ITD e 7,3% TKD) e o NPM1 estava mutado em 30,8% dos pacientes. Na análise da sobrevida global, foram significantes a categoria de risco citogenético e as mutações FLT3-ITD e NPM1. Na análise multivariada, apenas o risco citogenético e a mutação do FLT3-ITD permaneceram como fatores desfavoráveis independentes. Idade > 60 anos, grau de leucocitose, classificação FAB e FLT3-TKD não apresentaram diferenças significativas. **Conclusão:** Nossa amostra é pequena e tivemos uma alta taxa de mortalidade precoce por problemas no tratamento de apoio, próprios do nosso meio. Mesmo assim, foi possível confirmar a importância de se examinar o cariótipo e a mutação do FLT3-ITD ao diagnóstico para orientar o tratamento. A mutação do NPM1 se mostrou como um fator prognóstico favorável, mas mais fraco do que os fatores desfavoráveis. O valor prognóstico da mutação FLT3-TKD é controverso na literatura e não foi significativo nos nossos pacientes.

333. INFILTRAÇÃO TUMORAL METASTÁTICA EM MEDULA ÓSSEA: ASPECTOS IMUNOFENOTÍPICOS POR CITOMETRIA DE FLUXO – RELATO DE TRÊS CASOS

Carvalho AC, Soares ACCV, Maciel FVR, Barroso RS, Viana MA, Alves CS, Sousa LB, Silva AF, Boas BV, Souto EX

Diagnósticos da América S.A. (DASA), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A medula óssea é um dos órgãos envolvidos por tumores sólidos que usam a via hematogênica como forma de disseminação. Em adultos os tumores mais frequentemente observados em medula óssea são os carcinomas de próstata, mama e pulmão e, em crianças, o neuroblastoma, rhabdomyosarcoma, sarcoma de Ewing e retinoblastoma. Anemia é o achado hematológico mais comum (71,4%), seguida de plaquetopenia (45,1%). O exame do sangue periférico pode demonstrar a reação leucoeritroblástica (22,2%). O aspirado e a biópsia de medula são métodos usados para detecção de metástases. A biópsia de medula óssea é mais sensível e essa sensibilidade aumenta se feita bilateralmente. **Objetivo:** Descrever os achados imunofenotípicos em três casos de infiltração neoplásica por tumores sólidos em medula óssea. **Material e métodos:** Análise por citometria de Fluxo. Caso 1: Paciente A.B.O., 72 anos, masculino, com plaquetopenia a esclarecer. A medula óssea apresentava-se substituída por células tumorais isoladas e agrupadas com características não hematológicas. Caso 2: Paciente J.V.D.O., quatro anos, masculino, com suspeita clínica de neuroblastoma, apresentou também o parênquima medular substituído por células tumorais. Caso 3: L.D.B., 30 anos, masculino, que apresentava células anômalas em sangue periférico e medula óssea, ambos os materiais imunofenotipados. Nos três casos foram feitos painéis amplos de marcadores, uma vez que foram enviados ao laboratório com hipótese diagnóstica de possível leucemia aguda. **Resultados:** Detectamos presença de população de tamanho variado (médio a grande) e baixa a moderada complexidade interna, que não apresentava positividade para o antígeno pan-leucocitário CD45 e para nenhum antígeno linhagem-específico. Nos casos 1 e 2 observamos a positividade para o CD56 (presente em células de adesão neuronal) e nos casos 1 e 3 para o CD117 (c-kit), que é um receptor de tirosina-quinase que pode estar presente em algumas doenças hematológicas e em outros tumores, como seminomas, adenocarcinomas, melanomas e carcinomas neuroendócrinos. No caso 3 observamos também positividade parcial para o CD13, CD14, CD123 e HLA-DR. O caso 1 não teve o tumor identificado, o caso 2 confirmou-se como neuroblastoma e o caso 3 como tumor indiferenciado. **Conclusão:** A citometria de fluxo, ainda hoje, não é uma ferramenta muito usada para o diagnóstico de neoplasias não he-

matopóéticas. O padrão ouro para esse diagnóstico são os achados morfológicos e imuno-histoquímicos observados em exame anátomo-patológico, porém ressaltamos a importância de estarmos atentos a alguns aspectos imunofenotípicos à citometria de fluxo que são recorrentes nessas neoplasias e podem auxiliar na exclusão de outros diagnósticos, bem como evitar conclusões diagnósticas incorretas. No futuro, de acordo com estudos recentes e com o advento de novos marcadores específicos, essas neoplasias poderão ser mais bem identificadas por citometria de fluxo.

334. RECAÍDA TESTICULAR COMBINADA DE LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA PEDIÁTRICA – RELATO DE CASO

Zorovich MESLM, Martino CC, Giuliani RRS, Souza TA, Ferreira ECPM

Centro Universitário Lusíada (UNILUS), Santos, SP, Brasil

Introdução: A leucemia linfóide aguda (LLA) é uma neoplasia maligna monoclonal proveniente de uma alteração genética dos precursores linfóides em nível de medula óssea. A LLA gera uma proliferação exagerada e descontrolada das células linfocíticas e causa a perda total ou parcial de sua maturação. O diagnóstico definitivo é obtido por meio do conhecimento do tipo celular envolvido. O tratamento da LLA é prolongado, constata-se a cura após cinco anos de remissão completa. Em alguns pacientes pode haver a recidiva mesmo após o tratamento intensivo. Podem apresentar recidiva na medula óssea, no sistema nervoso central (SNC) ou, em menos de 1%, no testículo. **Objetivo:** Relatar por meio de exames laboratoriais o caso de um paciente pediátrico de 10 anos, sexo masculino, que teve recaída testicular combinada com leucemia linfóide aguda. **Relato de caso:** Os sintomas clínicos tiveram início em junho de 2010, porém, em 23/06/2010, foram feitos o hemograma e o mielograma do paciente, que revelaram anemia leve, leucopenia com linfocitose e a presença de cinco blastos em sangue periférico; já o mielograma apresentou hiperplasticidade de série branca, com 90% de blastos, 6% de linfócitos e 4% de granulócitos, e também uma baixa quantidade da série eritrocítica. Os dados obtidos foram compatíveis com LLA pré-B por meio da imunofenotipagem. Por meio do cariótipo de banda G, feito em 25/06, caracterizou-se um aspecto hiperdiploide dos cromossomos. Foram observados mais de 50. Teve início imediato o tratamento quimioterápico. No dia 28, foi feita a análise do LCR, que se apresentou negativo para a pesquisa de células neoplásicas até o fim do caso. Em 12/07 e 02/08/2010 foram feitos mielogramas, os quais apresentavam-se normocelulares, com hiperplasticidade de série eritrocítica e hipocelularidade das séries granulocíticas e megacariocítica, e constatou-se o início da diminuição das células neoplásicas. Foi feita também a pesquisa de doença residual mínima (DRM), que demonstrou resultado negativo. Em 26/01/2011 foi feito mais um mielograma, o qual demonstrou a diminuição do percentual de granulócitos e o aumento da série eritrocítica. Em 29/06/2011 foram feitos novo mielograma e imunofenótipo, os quais não apresentavam células anômalas. Em 04/03/2013 foi feita uma ultrassonografia de bolsa testicular que revelou alterações que poderiam estar relacionadas à doença de base do paciente. No dia 8 foi feito um novo mielograma, que revelou 20% de linfoblastos e concluiu uma recidiva da LLA. Na mesma amostra, foi feito o cariótipo com banda G, que revelou um cariótipo hiperdiploide, com mais de 46 cromossomos. No dia 11, foi feita a análise do LCR para o acompanhamento da recidiva em relação ao SNC. No entanto, os resultados mantiveram-se normais. Já o estudo da DRM apresentou resultado positivo. **Conclusão:** Alguns fatores associados à LLA pré-B apresentados pelo paciente indicaram mau prognóstico, como a ausência da translocação TEL/AML1, a recaída testicular e a hiperdiploidia. Passados cerca de sete meses após a recaída testicular, foi encontrada uma MO compatível e então foram feitos os exames pré-transplante. A imunofenotipagem de painel proliferativo sugeria a remissão imunofenotípica da LLA pré-B, por causa da quimioterapia. O TMO foi feito com sucesso em dezembro de 2013.

335. ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS CLONAIS EM PACIENTES PORTADORES DE ANEMIA DE FANCONI COM DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS MIELOIDES – RELATO DE QUATRO CASOS

Fatobene G, Cabral TCDS, Lima WM, Rassi A, Leal AM, Velloso EDRP

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A anemia de Fanconi (AF) é uma doença hereditária caracterizada por anormalidades fenotípicas congênitas e predisposição ao

desenvolvimento de falência medular, síndrome mielodisplásica (SMD), leucemia mieloide aguda (LMA) e tumores sólidos. A doença decorre de instabilidade cromossômica e seu diagnóstico é baseado na alteração dos cromossomos expostos a agentes clastogênicos. A quebra é induzida por diepoxibutano (DEB), seu teste de escolha. Aproximadamente um terço dos pacientes desenvolve LMA ou SMD até os 40 anos, enquanto a LMA é 500 vezes mais comum na AF em relação à população geral. As alterações cromossômicas mais frequentes nas neoplasias mieloides relacionadas à AF são: +1q, -7/7q-, +3q, +13q e 20q-. **Objetivo:** Apresentar quatro relatos de caso de pacientes brasileiros portadores de AF com SMD ou LMA e suas respectivas anormalidades cariotípicas. **Relatos de caso:** 1) Masculino, 23 anos, diagnóstico de AF em 15/01/2007, evolução para LMA com cariótipo 46,XY, trp(1)(q21q32)[2]/48,XY, trp(1)(q21q32),+8,+9[18] em outubro/2013, foi a óbito em fevereiro/2014. 2) Masculino, 18 anos, diagnóstico de AF em 25/11/2013, evolução para LMA com cariótipo 46,XY,add,(6)(p22)[5]/46,XY,add(6)(p22),del(20)(q11.2)[15] em fevereiro/2014, quando foi iniciado tratamento com azacitidina. Aguarda transplante de medula óssea alogênico não aparentado. 3) Feminino, 38 anos, diagnóstico simultâneo de AF e SMD com cariótipo 46,XX,+der(1)t(1;?) (q10;?),dup(3)(q26q29),-? 21[2] em dezembro/2012. Melhoria das citopenias com danazol. Contra-indicado transplante de medula óssea por comorbidades. 4) Masculino, sete anos, diagnóstico simultâneo de AF e LMA com cariótipo 46,XY,add(21)(p13)[2]/49,XY,+19,+21,+mar[2]/46,XY[16] em 08/05/2014. Em tratamento quimioterápico no momento. **Discussão:** Observamos, em três dos quatro casos relatados, anormalidades clonais citadas na literatura como recorrentes na evolução da AF. Nos dois primeiros casos, essas anormalidades citogenéticas ocorreram de forma evolutiva, depois do diagnóstico de AF, na progressão para LMA; os dois últimos, por sua vez, apresentaram-nas no momento do diagnóstico concomitante de SMD/LMA e AF. **Conclusão:** As alterações citogenéticas clonais mais comumente associadas à AF indicam os pacientes em risco de evolução para SMD/LMA no seguimento clínico horizontal, bem como sinalizam a hipótese de AF prévia em indivíduos jovens com LMA *de novo*.

336. LINFOMA T/NK NASAL – REVISÃO DA LITERATURA E RELATO DE CASO

Cirlinas AM, Silva JO, Rossi SB, Borducchi DMM

Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

Introdução: O linfoma T/NK de células nasais é uma doença extra nodal da linhagem de linfócitos T, mais especificamente das células *natural killers*, no tipo nasal. Pouco se sabe sobre a etiologia deste linfoma. No entanto, é observada sua forte associação com o EBV, que sugere a participação dele na fisiologia da doença. A cavidade nasal e as áreas paranasais, incluindo o trato aerodigestivo alto, são os alvos de acometimento inicial dessa doença (+ 80% dos casos) e pode ocorrer disseminação para outras regiões extranodais, como pele, pulmão, trato gastrointestinal, rins, pâncreas, testículos, cérebro, fígado e baço. Os sintomas iniciais mais frequentes são obstrução nasal, secreção nasal e epistaxe. O diagnóstico definitivo se faz por imuno-histoquímica e ainda não foi definido um tratamento padrão ouro, mas é muito usada a combinação entre quimioterapia e radioterapia. **Relato de caso:** E.A.L.P., 53 anos, branco, masculino, natural e residente em São Bernardo do Campo, internado em setembro de 2013 com quadro de dacriocistite à esquerda, apresentava edema e hiperemia de pálpebra e drenava secreção purulenta de ductos lacrimais. A rinoscopia demonstrou desvio de septo nasal para esquerda, sinéquia de concha nasal inferior direita, obstrução da fossa nasal esquerda e saída de secreção hialina pelo nariz. Em nova abordagem apresentava queixa de aumento do volume do nariz e foi observada uma lesão em dorso nasal e palato duro associada a um aumento de volume da hemiface direita. A biópsia da lesão foi sugestiva de linfoma não Hodgkin e o paciente foi encaminhado ao ambulatório de hematologia. O exame anatomopatológico foi revisado no Hospital Estadual Mário Covas (HEMC) em 25/02/2014, e revelou tratar-se de linfoma de células T/NK tipo nasal. Os marcadores imuno-histoquímicos positivos foram: CD3, CD2, BCL2, CD56, TIA-1, Ki-67. A hibridização *in situ* demonstrou a presença do EBV. Paciente submetido a exames de estadiamento: IAE. Em 21 de fevereiro de 2014 foi internado por queda de estado geral e recebeu antibioticoterapia. No dia 28 do mesmo mês, ainda internado, iniciou ciclo de quimioterapia Choep, sem adição de etoposídeo ao esquema, por causa da disfunção

renal prévia (doença renal crônica por glomerulopatia colapsante). Em 21/03 foi internado para início do primeiro de três ciclos do esquema Choep. Após tratamento químico e radioterápico apresentou grande melhora com redução da massa tumoral e regressão de boa parte dos sintomas, porém em 19/04/2014 foi readmitido no hospital com quadro de insuficiência renal seguido de neutropenia febril e faleceu na UTI no dia 29 em choque séptico. **Discussão:** Por causa da abertura do caso com sintomas de obstrução nasal se torna difícil o diagnóstico diferencial em relação a uma sinusopatia inflamatória ou infecciosa. O paciente relatava antecedente pessoal de sinusite desde de 2010, o que talvez fosse sintoma do linfoma que precedeu a descoberta da massa e o aparecimento dos sintomas que surgiram em decorrência. **Conclusão:** A maioria dos casos relatados é em homens adultos e geralmente os linfomas de origem NK expressam positividade para CD2, CD3 citoplasmático, CD56 e grânulos citotóxicos e negatividade para CD3 de superfície, o que em muito se assemelha ao perfil imuno-histoquímico do paciente em questão.

337. HIPERPLOIDIA ASSOCIADA À MULTINUCLEARIDADE EM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA (LMA) SECUNDÁRIA A SÍNDROME MIELODISPLÁSICA (SMD)

Fernandes CM, Carvalho PDR, Lage LAPC, Martinez GA, Pereira J, Velloso EDRP

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Leucemia mieloide aguda com alterações mielodisplásicas é definida pela presença de mais de 20% de blastos da medula óssea ou sangue periférico, com alterações morfológicas de mielodisplasia, em pelo menos 50% das células de duas linhagens, ou história prévia de SMD ou anormalidades citogenéticas relacionadas à SMD. Representa 24 a 35% de todos os casos de LMA. As alterações citogenéticas frequentemente envolvem ganho ou perda de parte de algum cromossomo, cariótipo complexo, e os achados mais frequentes são -7/del(7q) e -5/del(5q). Essa neoplasia geralmente tem prognóstico pobre, com frequência de remissão completa menor do que os outros tipos de LMA. Hiperdiploidia é alteração rara nas neoplasias mieloides e ainda de significado desconhecido. **Relato do caso:** Homem, 51 anos, com quadro de síndrome anêmica e histórico de exposição ocupacional a organofosforados por mais de 20 anos. Hemograma com pancitopenia: Hb: 7,5 g/dL, VCM: 95,2fL, leucócitos: 2.980/mm³, neutrófilos: 1.300/mm³, com elementos pelgeroides e 2% de blastos, plaquetas 62.000/mm³, desidrogenase láctica 379 (VN até 480). Aspirado de medula óssea com hiperplasticidade global, 5,6% de blastos mieloides, displasia das três linhagens e 30% de sideroblastos em anel. Biópsia de medula óssea com presença de 15% a 20% de células CD34+. Imunofenotipagem de medula óssea demonstrou elementos mieloides com complexidade interna reduzida, atraso maturativo e perda de expressão do antígeno CD10. Cariótipo sugestivo de cariótipo monossomal e Fish com deleção do braço longo do cromossomo 7. Foi feito diagnóstico de síndrome mielodisplásica, anemia refratária com excesso de blasto (Areb II) IPSS intermediário 2, WPSS muito alto risco, IPSS-R muito alto risco. Iniciado tratamento com azacitidina e após terceiro ciclo paciente evoluiu com pioria importante das citopenias com 16% de células blásticas no sangue periférico, aumento da necessidade transfusional, desidrogenase láctica 840 U/L. Feita nova avaliação medular que evidenciou medula óssea hiperplástica à custa do componente eritroide (93% do total) com predomínio de formas imaturas e displásicas, compatível com leucemia mieloide aguda com alterações relacionadas à mielodisplasia (OMS)/leucemia aguda eritroide pura pela classificação FAB (LMA M6b), com presença de células de grande volume e multilobadas. Novo estudo citogenético mostrou cariótipo complexo: o clone inicial monossomal com deleção dos braços longos do 5, 13 e 20 e monossomia 7; o outro hiperdiploide (quase triploide a quase pentaploide) com as mesmas anormalidades e ganho de muitas outras. Estudo por Fish multipanel SMD/LMA confirmou parte dessas anormalidades. Foi iniciado tratamento de indução de LMA com D3A7 e evoluiu com remissão citomorfológica após. Está em programação de TCTH não aparentado. **Conclusão:** Relatamos um caso de síndrome mielodisplásica com cariótipo monossomal que na evolução para LMA apresentou clones tri, tetra e pentadiploides e refletiu o achado morfológico não usual de células multinucleadas na medula óssea.

338. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL POR CITOMETRIA DE FLUXO DA LEUCEMIA DE CÉLULA DENDRÍTICA PLASMOCITOIDE COM IMUNOFENÓTIPO ATÍPICO

Campos MM, Rezende MA, Souza KW, Oliveira RVF, Diniz CS, Pires V, Gomes BE, Dobbin JA, Bouzas LFS, Abdelhay E

Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A leucemia de célula dendrítica plasmocitoide (LCDP) é considerada uma doença hematológica de mau prognóstico que acomete, geralmente, adultos. O diagnóstico por imunofenotipagem demonstra que a LCDP, comumente, apresenta positividade para os seguintes marcadores: CD4^{fraco}, CD117, CD45RA, NG-2, CD13 ou CD33, CD11b, CD56, HLA-DR^{forte} e CD123^{forte}. No entanto, imunofenótipos atípicos de LCDP podem ser negativos para CD56 e CD45RA e, ainda, positivos para CD11c. **Objetivo:** Avaliar perfis de LCDP diagnosticados pelo Laboratório de Imunologia do Centro de Transplante de Medula Óssea (INCA) e diferenciar os imunofenótipos comuns dos atípicos e aberrantes, para melhor elucidação diagnóstica. **Material e métodos:** Foram estudados cinco pacientes diagnosticados com LCDP: quatro adultos, acima de 60 anos, e um pediátrico, de 13 anos. As cinco amostras de medula óssea foram incubadas com anticorpos específicos: Becton Dickinson - CD4, CD8, CD3, HLA-DR, CD123, CD11c, CD11b, CD45, CD36, CD56, CD14, CD64, CD10, CD20, CD19, CD15, CD34, CD117, CD33, CD13, CD2, CD5, CD7, CD16, CD80, CD83, CD43, CD45RA; Beckman Coulter - NG-2; Dako - MPO e TdT. O protocolo de imunofenotipagem foi feito de acordo com a bula dos fabricantes dos respectivos anticorpos. A aquisição das amostras foi feita no citômetro de fluxo FACScan (citômetro de três cores) e foram adquiridas 100.000 células totais. As análises foram feitas no programa Paint-a-Gate. **Resultados:** A análise das cinco amostras demonstrou imunofenótipo comum das LCDPs com positividade para: CD4^{fraco}, HLA-DR^{forte}, CD123^{forte}, CD33, CD80^{fraco}, CD83. Ressalta-se que todos os perfis imunofenotípicos de LCDP apresentaram negatividade para: CD117, CD34, MPO, TdT, CD14, CD16, CD10, CD20, CD19, CD8 e CD13. No entanto, o paciente pediátrico apresentou um imunofenótipo atípico de LCDP com positividade para CD11c e CD11b e negatividade para CD56 e CD45RA. **Conclusão:** Esses dados, além de corroborar a heterogenicidade dessa patologia, sugerem que o paciente pediátrico apresentou um imunofenótipo atípico e aberrante que difere das LCDPs de adultos encontradas na literatura. Dessa forma, a caracterização dessas raras desordens por imunofenotipagem pode auxiliar a clínica com um diagnóstico mais rápido e preciso, corroborar os dados morfológicos e auxiliar o corpo clínico para a conduta do tratamento.

Referências:

1. Takiuchi Y, Maruoka H, Aoki K, Kato A, Ono Y, Nagano S, et al. Leukemic manifestation of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm lacking skin lesion: a borderline case between acute monocytic leukemia. *J Clin Exp Hematop.* 2012;52(2):107-11.
2. Garnache-Ottou F, Feuillard J, Ferrand C, Bièche S, Trimoreau F, Seilles E, et al. Extend diagnostic criteria for plasmacytoid dendritic cell leukaemia. *Brit J Haematol.* 2009;145(5):624-36.

339. ENVOLVIMENTO DE SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM SEGUNDA RECAÍDA HEMATOLÓGICA DE LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA – RELATO DE CASO

Assuncao PM, Oliveira LC, Fernandes EMSA, Paul P, Duarte BKL, Lorand-Metze I, Pagnano KBB

Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) é uma doença altamente curável com o tratamento com ácido transretinóico (ATRA) e antraciclina. Apresentando índices de remissão global de até 95% e índices de cura que excedem 80%. A recaída eventualmente ocorre em 20% a 30% dos pacientes e estima-se que 3% a 5% apresentarão recaída extramedular, 0,6% a 2% no SNC, principal sítio de recaída extramedular da LPA. **Objetivo:** Relatar caso de paciente jovem com diagnóstico de LPA alto risco com duas recaídas hematológicas, a segunda associada a envolvimento do SNC. **Relato de caso:** Paciente masculino, 32 anos, com diagnóstico de LPA alto risco em abril de 2008, com 58.140 leucócitos/mm³, plaquetas 34.000/mm³, RNI 1,78, R 0,78, fibrinogênio 152, mielograma com 96% de blastos, cariótipo 46,XY t(4;6);(15;17), re-

arranjo PMLRARA positivo. Foi submetido à terapia de indução com daunorrubicina e ATRA, apresentou remissão hematológica, citogenética e molecular. Após terceiro ciclo de consolidação, abandonou o tratamento. Retornou em novembro de 2009 com recaída hematológica da APL. Submetido à reindução com ATRA e daunorrubicina, obteve nova remissão hematológica, porém sem remissão citogenética e molecular, e abandonou novamente o tratamento. Retornou em agosto de 2013 em segunda recaída hematológica e foi feita reindução com ATRA, trióxido de arsênio (ATO) e mitoxantrone. Durante a reindução, evoluiu com síndrome de diferenciação, insuficiência respiratória e necessidade de ventilação mecânica. À extubação, apresentava confusão mental, paresia em membro superior esquerdo e marcha atáxica. TC de crânio revelou realce leptomeníngeo em sulcos parieto-occipitais à direita, o que sugeria infiltração neoplásica, achados confirmados à RNM, que também revelou focos de micro-hemorragias petequiais. Punção líquórica confirmou infiltração leucêmica em SNC. Associada terapia intratecal com metotrexate, citarabina e dexametasona (MAIT), com completo clearance de promielócitos no líquido após quatro aplicações. O paciente obteve remissão hematológica, porém sem resposta molecular. Apresentava irmão doador HLA compatível com proposta de TCTH alogênico aparentado como terapia de consolidação. No entanto, evoluiu com óbito em novembro de 2013, por choque cardiogênico secundário a tromboembolismo pulmonar. **Discussão:** Leucócitos superiores a 10.000/mm³ ao diagnóstico e ocorrência de sangramento em SNC durante a indução são os principais fatores de risco para recidiva da APL em SNC. No entanto, a baixa incidência de recaída em SNC e os riscos de punções lombares em vigência de coagulopatia não favorecem a indicação de profilaxia sistemática em SNC. A terapia para recaída em SNC consiste em terapia intratecal com MAIT associada à terapia sistêmica, posto que geralmente associa-se recaída hematológica. Nesses casos, o TCTH alogênico pode ser usado como consolidação. **Conclusão:** Descreve-se baixa incidência de recaída em SNC em pacientes com LPA tratados com ATRA e antraciclina, sem profilaxia específica para SNC. Essa não tem indicação precisa mesmo nos casos de alto risco. Leucocitose e hemorragias em SNC são fatores prognósticos independentes para a recaída em SNC e sempre se deve associar terapia sistêmica à intratecal. O TCTH é a consolidação de escolha. A falta de adesão ao tratamento contribuiu para a pior evolução do caso em questão.

340. CARACTERÍSTICAS DE PACIENTES COM LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA COM MORTE PRECOZE

Melo NJS^a, Alves TF^a, Azevedo IF^a, Melo FCBC^b, Neves WBD^b, Souto FR^b, Rego EM^c, Melo RAM^{a,b}

^a Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, Brasil

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

^c Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) corresponde a cerca de 20% a 25% das leucemias mieloides agudas nos países latino-americanos e era considerada a leucemia de pior prognóstico. Atualmente, o tratamento com a combinação de ATRA e antracíclico, induz à remissão em mais de 90% dos pacientes e sobrevida livre de doença em seis anos superior a 80% em estudos controlados. Entretanto, a taxa de morte precoce na LPA ainda permanece elevada. **Objetivo:** Identificar as principais características clínicas e laboratoriais dos pacientes adultos com LPA que apresentaram morte precoce. **Material e métodos:** O estudo, do tipo série de casos, incluiu 67 pacientes adultos com diagnóstico de LPA atendidos na Fundação HEMOPE, de janeiro de 2007 a julho de 2014. A morte precoce foi definida como de ocorrência em até 30 dias após o diagnóstico. As variáveis analisadas foram idade, sexo, classificação de risco de recaída, coagulopatia ao diagnóstico, elegibilidade ou não ao tratamento pelo protocolo do Consórcio Internacional de Leucemia Promielocítica Aguda (IC-APL 2006) e causa do óbito. Os dados coletados foram incluídos em planilha eletrônica com análise estatística descritiva. **Resultados:** Dos pacientes incluídos no estudo, 17 (25,4%) apresentaram morte precoce. Nesses a mediana de idade ao diagnóstico foi de 46 anos (20 a 72) e a relação masculino:feminino de 1,4:1. Coagulopatia ao diagnóstico estava presente em todos os pacientes, com manifestações hemorrágicas evidentes em 16 (94%), principalmente em pele (65%) e mucosa oral (53%). A maioria dos casos (71%) não foi elegível ao

tratamento pelo protocolo IC-APL-2006. Todos os pacientes foram classificados ao diagnóstico como de risco de recaída alto (82%) ou intermediário (18%). A mediana da sobrevida dos pacientes foi de oito dias (3 a 29) com as seguintes causas de óbito: nove (53%) por hemorragia, quatro (23%) infecção, um (6%) hemorragia/infecção e três (18%) não documentadas, com ocorrência fora da instituição. Os locais de sangramento foram intracraniano (45%), pulmonar (33%) e digestivo (22%). **Conclusão:** A frequência de morte precoce nessa série de casos de pacientes com LPA foi compatível com dados publicados e as principais características encontradas foram coagulopatia ao diagnóstico, classificação como alto risco de recaída e não elegibilidade ao tratamento pelo protocolo IC-APL 2006.

341. RESULTADOS DO PROTOCOLO GMALL NA LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA (LLA) DE ADULTOS E ADOLESCENTES E COMPARAÇÃO HISTÓRICA COM O PROTOCOLO BFM86

Yamakawa PE^{a,b}, Medina Ab^{a,b}, Pracchia LF^c, Coulturato I^{a,b}, Falcão GM^{a,b}, Buccheri V^{a,b}, Llacer PD^{a,b}, Xavier F^{a,b}, Velloso EDRP^{a,b}

^a Serviço de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP), São Paulo, SP, Brasil

^c Hospital São Camilo/Pompeia, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A LLA representa menos de 1% de todas as neoplasias e menos de 20% das leucemias em adultos, com sobrevida livre de doença em cinco anos de 35-40%. Estudo retrospectivo do nosso grupo mostrou superioridade do protocolo BFM 86 usado de 1999 a 2005, em relação ao protocolo UCLA usado de 1994-1999, em relação à sobrevida global (SG), particularmente no subgrupo com idade inferior a 35 anos. **Objetivo:** Análise retrospectiva do protocolo GMALL para LLA de 2009-2014 e comparação histórica com BFM86 no SHHCFMUSP/Icesp. **Materiais e métodos:** Para análise dos dados foi usado o pacote SPSS versão 10.0. SG foi estimada por curva de Kaplan-Meier com censura na data da feitura do TCTH, comparação por meio de *log-rank*. Foi feita análise bivariada para estudo de variáveis (idade, sexo, fenótipo e infiltração de SNC) nos dois protocolos. Comparação entre a taxa de remissão completa (RC) pelo teste de qui quadrado. **Resultados: Protocolo GMALL:** 60 pacientes, 28 (46%) do sexo masculino, mediana de 36,4 anos (16-71), cinco (8,3%) pacientes < 18 anos, 28 (46,7%) 18-35 anos e 27 (45%) > 35 anos; 74,5% apresentavam fenótipo B, leucocitose (leucócitos acima de 30 mil para fenótipo B e acima de 100 mil para fenótipo T) em 18 (30%). Infiltração de SNC em 17 (29%). Análise citogenética conclusiva em 27 casos, com presença de cromossomo Filadélfia ou BCR-ABL em 17 casos. Esses receberam no protocolo o inibidor de tirosina quinase, imatinibe. Pela classificação de risco do protocolo, 16 (27,2%) pacientes apresentavam risco padrão, 26 (44%) risco alto e 17 (28,3%) muito alto risco. Onze (18,3%) pacientes morreram após a fase de indução, antes de ser feita a reavaliação medular. A principal causa de óbito foi sepse por neutropenia febril. A remissão completa foi atingida em 46/49 (93,8%) pacientes, dois apresentaram resposta parcial e um refratariedade. O seguimento médio foi de 33 meses, com mediana de SG de nove meses. Doze pacientes foram submetidos a TCTH alogênico, dos quais nove foram a óbito. **GMALL vs BFM86:** O protocolo BFM86 mostrou menor mediana de idade dos pacientes (29 meses vs 36 meses $p = 0,01$), sem diferença em relação às variáveis sexo, imunofenótipo, infiltração de SNC. A mediana de seguimento foi maior (61 meses vs 33 meses) no protocolo BFM86. O protocolo BFM mostrou menor taxa de RC (93,7% vs 76,7%, $p = 0,018$), mas foi superior ao GMALL em relação à SG para todos os pacientes ($p = 0,0002$), para pacientes com idade inferior a 35 anos (92 meses vs 17 meses, $p < 0,001$), para ambos os sexos (masculino $p = 0,002$ e feminino $p = 0,038$), para ambos os fenótipos (T $p = 0,004$ e B $p = 0,0013$) e para pacientes sem infiltração de SNC ($p = 0,0031$). **Conclusão:** Apesar do protocolo GMALL apresentar maior taxa de RC quando comparado com o BFM86, notamos que isso não se traduziu em SG, a qual foi muito ruim, particularmente na população abaixo de 35 anos, com resultados bastante inferiores aos relatados pelo grupo alemão. A principal causa de óbito foram complicações infecciosas apresentadas durante a internação no período de mielossupressão. O insucesso desse protocolo pode ser consequência de modificações feitas (adaptação de algumas drogas não disponíveis em nosso meio, como PEG-asparaginase, tenoposide, modificação de protocolo de profilaxia antimicrobiana, não feitura de TCTH autólogo) ou de particularidades em nossa população (alta taxa de Ph).

342. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA E REARRANJO E2A-PBX1 – RELATO DE CASO

Azevedo IF^a, Melo FCBC^b, Neves WBD^b, Souto FR^b, Melo RAM^{a,b}

^a Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: Na leucemia linfoblástica aguda (LLA), o rearranjo E2A-PBX1 ativa expressões de genes do domínio E2A que contribuem para transformação maligna de células pré-B e confere prognóstico adverso. **Objetivo:** Relatar três casos de pacientes com LLA e presença do rearranjo E2A-PBX1 detectado pela técnica de RT-PCR, em 61 pacientes diagnosticados entre janeiro de 2008 e julho de 2014 na Fundação HEMOPE. **Relatos de caso:** 1) A.C.A., 21 anos, masculino, foi encaminhado em agosto de 2008 por causa de esplenomegalia. O hemograma constatou anemia (Hb = 11,6 g/dL), plaquetopenia (57.000/mm³) e leucocitose (16.100/mm³) com 56% de linfoblastos. O mielograma (90% de linfoblastos) e a imunofenotipagem (CD19⁺) foram compatíveis com LLA-B. O paciente foi tratado pelo protocolo UKALL-XII e só obteve remissão hematológica após sete meses. Com nove meses um exame de ressonância magnética constatou infiltração extramedular em quadril e o mielograma revelou 38% de linfoblastos anormais. O paciente foi reintroduzido com o protocolo Hyper-CVAD e entrou em remissão. Com dois meses apresentou uma segunda recaída, dessa vez em articulação têmporo-mandibular, quando foi transferido para unidade de terapia intensiva (UTI) e evoluiu para o óbito por sepse após 440 dias de seguimento. 2) L.M.S., 39 anos, masculino, foi diagnosticado em janeiro de 2012. O hemograma mostrou anemia (Hb = 9,6 g/dL), plaquetopenia (15.000/mm³) e leucocitose (28.000/mm³) com 90% de linfoblastos. Os demais exames foram mielograma (98% de linfoblastos), imunofenotipagem (LLA-B) e citogenética com der(19)t(1;19)(q23;p13). O paciente foi internado na UTI e apresentou diversas complicações, evoluiu para o óbito após 25 dias de seguimento, por choque séptico e insuficiência respiratória antes do início do tratamento quimioterápico. 3) J.C.S., 32 anos, feminino, apresentava icterícia com hepatoesplenomegalia e foi diagnosticada em março de 2014. O hemograma apresentava anemia (Hb = 9,9 g/dL), plaquetopenia (76.000/mm³) e leucopenia (1.260/mm³) com ausência de linfoblastos. O mielograma mostrou 56% de células imaturas de difícil classificação, porém a biópsia da medula óssea revelou blastos sugestivos de linhagem linfóide e a imunofenotipagem padrão para LLA-B. Até o momento, apesar da intercorrência de colelitíase, evoluiu com 138 dias de seguimento sem queixas e sob tratamento pelo protocolo Hyper-CVAD. **Discussão:** A frequência do rearranjo E2A-PBX1 em pacientes adultos com LLA é baixa e eles apresentam características de prognóstico adverso. Os casos aqui relatados representaram 5% da casuística do serviço e algumas das características descritas na literatura. A detecção do rearranjo E2A-PBX1 é importante para a estratificação de risco, pois, apesar de os pacientes apresentarem baixa resposta terapêutica, com a intensificação do tratamento eles podem ter melhor prognóstico. **Conclusão:** A pesquisa de rearranjos gênicos auxilia o diagnóstico, a conduta terapêutica e a investigação da doença residual mínima, com vistas à diminuição das taxas de recaídas e ao aumento da sobrevida dos pacientes.

343. ANÁLISE MOLECULAR DOS PONTOS DE QUEBRA DA T(15;17) EM PACIENTES BRASILEIROS DIAGNOSTICADOS COM LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA DE NOVO

Lange APAL^a, Mendoza SES^{a,b}, Hasan SK^c, Rego EM^a

^a Laboratório de Hematologia, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Programa Estudantes Convênio de Pós-Graduação, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasília, DF, Brasil

^c Departamento de Biopatologia, Universidade Tor Vergata, Roma, Itália

Introdução: A t(15;17) está associada à leucemia promielocítica aguda (LPA) e os pontos de quebra no DNA podem ocorrer dentro de três diferentes regiões do gene PML, localizado no cromossomo 15, conhecido como *breakpoint cluster region* (BCR) e dentro do *intron 2* do gene RARA no cromossomo 17. O mecanismo exato de como acontece essa translocação permanece incerto. **Objetivo:** Determinar o ponto de quebra da junção PML-RARA

em amostras de DNA obtidas da medula óssea ou do sangue periférico de 30 pacientes brasileiros diagnosticados com LPA *de novo*. **Material e métodos:** As amostras foram amplificadas por meio do método *long-range nested PCR*, purificadas e sequenciadas na plataforma ABI 3500 XL Applied BioSystems. Usou-se a ferramenta BLASTN para pesquisar homologia e comparar com as sequências referências para *bcr1*, *bcr3* e *intron 2* do RARA (números de acesso no GenBank S57791, S51489 e AJ297538, respectivamente). Para a determinação do ponto de quebra, usamos o *software* CLC Sequence Viewer 7. Os eletroferogramas foram inspecionados com o programa BioEdit Sequence Alignment Editor versão 7.2.5. **Resultados:** Dos 30 pacientes analisados, 18 foram positivos para *bcr1* e 12 para *bcr3*. Nos pacientes *bcr1*, a análise no gene PML revelou um grupo de cinco indivíduos com pontos de quebra muito próximos (10 nucleotídeos). Três apresentaram o mesmo ponto de quebra na posição 1.372. Nas mesmas três amostras, a análise do gene RARA demonstrou pontos de quebra também muito próximos (posições 13.068 [n = 2] e 13.071 [n = 1]), o que poderia indicar a presença de um provável *microcluster*. Outro paciente apresentou ponto de quebra na posição 13.106 no gene RARA, ficou apenas com uma diferença de 38 pb em relação à posição 13.068. Em outros quatro casos, a análise dos pontos de quebra no gene PML identificou outro grupo com diferença mínima de seis e máxima de 73 nucleotídeos, o que poderia sugerir outro provável *microcluster*. No restante dos casos foram identificados três grupos de dois pacientes, com diferenças de 11, 20 e 37 nucleotídeos. Apenas dois apresentaram ponto de quebra no gene RARA com diferença de 77 pb (posições 15.981 e 16.058). Em relação aos pacientes positivos para *bcr 3*, quando o gene PML foi analisado, um grupo (n = 3) apresentou pontos de quebra muito próximos, com uma separação mínima de 13pb e máxima de 50pb, podendo tratar-se de outro *microcluster*. Foi encontrada, também, uma diferença de 14 pb entre outros dois casos. No gene RARA, as análises demonstraram dois pacientes com pontos de quebra nas posições 6700 e 6754. Outro achado foi a presença de inserções de nucleotídeos entre o ponto de quebra do gene PML e do gene RARA. Dois pacientes positivos para *bcr 1* apresentaram inserção de um nucleotídeo (A e C, respectivamente). Quanto ao grupo de pacientes positivos para *bcr 3*, em dois deles foram observadas inserções de dois e quatro nucleotídeos (GA e CTGA, respectivamente). **Conclusão:** Este estudo foi o primeiro a analisar pontos de quebra ao nível genômico, tanto no gene PML como no RARA, num grupo de pacientes brasileiros com LPA *de novo*. O achado de potenciais agrupamentos nesses pacientes poderia sugerir sítios no DNA com maior probabilidade de quebra. A partir dos dados obtidos neste estudo, análises adicionais serão feitas para complementar e compreender melhor o mecanismo pelo qual surge a translocação t(15;17), responsável pelo desenvolvimento da LPA.

344. ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS EM 407 CASOS DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA (LLA) AVALIADOS ENTRE 2005 A 2014

Delatin B, Belline P, Fernandes G, Kusagari N, Sandes A, Chauffaille ML
Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é a neoplasia maligna mais frequente na infância, com pico de incidência entre os dois e os cinco anos, mas também acomete adultos. Anormalidades cromossômicas clonais estão presentes em grande parte dos cariótipos analisados ao diagnóstico e têm importância para a classificação, estratificação prognóstica, escolha da terapêutica e avaliação da resposta ao tratamento. Em nosso meio não há muitos relatos dos tipos de anormalidades cromossômicas observadas por cariótipo nessa doença, fato necessário e importante para se correlacionar com os dados obtidos por novas técnicas, tais como *arrays* e *next generation sequencing*. **Objetivo:** Descrever a frequência e o tipo de alterações citogenéticas em LLA observadas por meio de cariótipo. O estudo foi aprovado pelo CEP. **Material e métodos:** Foram selecionados casos com diagnóstico de LLA encaminhados para cariótipo de 2005 a 2014. O diagnóstico foi confirmado por mielograma e/ou imunofenotipagem, em conformidade com os critérios da OMS (2001; 2009). O cariótipo foi feito em amostra de medula óssea ou sangue periférico, por meio de cultura de curta duração. Foram analisadas 20 metafases coradas por banda G e as alterações descritas em conformidade com as normas do ISCN (2009; 2013). **Resultados:** Foram selecionados 407 casos, com uma relação H:M de 1,3:1, 341 foram classificados como LLA-B, 52 como LLA-T e em 14 não se teve o imunofenótipo. A idade variou de menos de um até 81 anos, distribuídos da seguinte forma: ≤ um ano (lactentes): 15 casos; de dois a 10 anos (crianças): 173; de 11 a 25 (adolescentes

e adultos jovens): 97; de 26 a 49 (adultos): 63; acima de 50: 43; e idade não informada: 16. No total foram observadas 58% de casos anormais e 42% de normais. As principais alterações observadas foram: a) Lactentes: alterações que envolveram o cromossomo 11q23 e hiperdiploidia, que corresponderam a 20% e 33,3% dos casos de LLA-B, respectivamente. b) Crianças: 24,3% dos casos de LLA-B eram hiperdiploides, 6,4% tinham t(1;19) e 1,8% apresentou t(4;11). A t(9;22) foi observada em 2,3% dos casos de LLA-T. c) Adolescentes e adultos jovens: hiperdiploidia, t(9;22) e t(1;19) foram encontrados em 15,5%, 4,1% e 5,1% dos casos de LLA-B, respectivamente. Na LLA-T, del(9) foi encontrada em 4,1% e del(11) em 6,19% dos casos. d) Adultos: hiperdiploidia, t(9;22), t(4;11) e t(1;19) foram encontrados em 15,8%, 22,2%, 7,9% e 3,2% dos casos de LLA-B, respectivamente, e deleções que envolveram os cromossomos 9,11 e 12 em 9,5% dos casos. e) > 50 anos: entre as alterações observadas, a t(9;22) foi a mais frequente, presente em 20,9% dos casos de LLA-B. Na LLA-B, a distribuição das anormalidades citogenéticas variou de acordo com a faixa etária. Alterações do 11q23, que conferem prognóstico desfavorável, foram mais frequentes em lactentes, enquanto a t(9;22) foi mais prevalente em adultos e em indivíduos com > 50 anos. Já a hiperdiploidia, uma anormalidade de prognóstico favorável, apresentou diminuição da incidência com a progressão da idade. Outras alterações numéricas, como a hipodiploidia foram raras e conferem prognóstico desfavorável. **Conclusão:** Esses dados estão em conformidade com as grandes séries internacionais.

345. LEUCEMIA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS – RELATO DE CASO E REVISÃO DE LITERATURA

Lima ARM^a, Batista DA^b, Rodrigues RG^b, Severo AJ^c, Lima GGM^c, Sousa GB^c, Sales VCW^c, Dantas DI^c, Fialho ECE^d, Botelho LFB^c

^a Instituto Cândida Vargas, João Pessoa, PB, Brasil

^b Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil

^c Universidade Federal da Paraíba (UFPA), João Pessoa, PB, Brasil

^d Hospital Napoleão Laureano, João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: A leucemia de células dendríticas é uma patologia hematológica rara, inserida na classificação das leucemias mieloides agudas e neoplasias de precursores relacionados, segundo a última classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), de 2008. Representa menos de 1% das neoplasias hematológicas e caracteriza-se pela expressão nas células neoplásicas de CD4 e CD56 na ausência de marcadores específicos para as linhagens mieloide ou linfóide. As manifestações clínicas mais frequentes são lesões cutâneas, adenomegalias, esplenomegalia, citopenias e presença de células neoplásicas imaturas na medula óssea e no sangue periférico. Existem poucos casos descritos na literatura, a maioria em adultos e idosos do sexo masculino, geralmente com curso agressivo e evolução ao óbito, apesar da abordagem com diversos protocolos poliquimioterápicos. **Objetivo:** Relatar caso de uma doença rara, bem como fazer revisão de literatura. **Relato de caso:** G.G.V., 50 anos, feminino, do lar, natural e procedente de Patos (PB). Paciente relatava história de lesão eritematosa, de aspecto nodular, não pruriginosa na coxa esquerda havia aproximadamente cinco meses. Vinha encaminhada da Dermatologia e fizera vários tratamentos tópicos para a referida lesão, sem melhoria. Havia feito biópsia cutânea, cujo anátomo-patológico revelou infiltrado linfóide atípico difuso, porém a essa época a paciente já evoluía com adenomegalias difusas e petéquias disseminadas, com hemograma evidenciando: Hb: 11 g/dL, leucócitos: 20.400/mm³, com presença de blastos e plaquetas: 25.000/mm³. No serviço de Onco-Hematologia, fez mielograma que evidenciou 69% de células imaturas; imunofenotipagem da medula óssea, com marcadores positivos para CD56, CD4 e CD 123; sorologias negativas; ultrassonografia de abdome que revelou esplenomegalia. Recebeu diagnóstico de leucemia de células dendríticas, iniciou poliquimioterapia de indução com daunorrubicina e citarabina, seguida de consolidação do tratamento com as mesmas drogas, conforme protocolo escolhido, mediante análise da literatura vigente. Paciente evoluiu com remissão morfológica, porém com rápida perda dessa resposta e evolução da atividade da doença. Internada para novo ciclo quimioterápico, evoluiu para óbito em três dias. **Discussão:** As células dendríticas são derivadas do tecido linfóide e atuam como células apresentadoras de antígenos, porém a patologia que as envolve, a leucemia de células dendríticas, ainda é pouco conhecida. A raridade das malignidades CD4+ CD56+ culmina na falta de consenso quanto ao protocolo de tratamento mais eficaz a ser seguido. A melhor opção para os pacientes acometidos por essa doença, segundo a literatura, ainda é a instituição precoce de protocolos agressivos de poliquimioterapia direcionados para leucemia mieloide, consolidada com transplante alogênico de medula óssea. As ma-

lignidades de células dendríticas devem ser reconhecidas precocemente pelo hematologista, em virtude de seu prognóstico ruim e da necessidade de instituição precoce de protocolos quimioterápicos. **Conclusão:** Pelas características já citadas, a doença pode ser fatal, como observado no caso clínico relatado e na literatura revisada.

346. ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DAS LEUCEMIAS AGUDAS INFANTIS EM TERESINA – PIAUÍ

Costa DCS^a, Goncalves JP^a, Nascimento CJC^b, Sabino EB^c, Cerqueira MAF^c, Lopes LS^c

^a Faculdade Maurício de Nassau, Recife, PE, Brasil

^b Faculdade Integral Diferencial (Facid/DeVry), Teresina, PI, Brasil

^c Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI, Brasil

Introdução: A leucemia é uma doença neoplásica que acomete o sistema hematopoético. Resulta de uma proliferação desregulada de um clone celular com alterações nos mecanismos de diferenciação e apoptose. A leucemia é a principal neoplasia maligna de crianças e adolescentes e as agudas são mais frequentes. **Objetivo:** Identificar o perfil epidemiológico das leucemias infantis em um hospital especializado em oncologia em Teresina (PI), quantificar os casos de leucemia e subdividi-los de acordo com os tipos e as formas blásticas, segundo a classificação FAB (Franco-Americo-Britânico), além de estudar a prevalência de leucemias em crianças e traçar a incidência do seu subtipo, assim como sua forma aguda. **Material e métodos:** Estudo descritivo quantitativo que analisou 183 prontuários de pacientes de 0 a 14 anos, de 2007 a 2011. **Resultados:** Foram encontrados 146 casos de LLA e 37 casos de LMA (79,8% e 20,2%, respectivamente). A leucemia mais frequente foi a linfóide aguda, mais frequente em meninos do que meninas, numa proporção de 1,3:1. **Conclusão:** Esses resultados confirmaram a condição de muitas partes do mundo, incluindo o Brasil e sua região Nordeste, onde a leucemia linfóide aguda é a mais frequente em crianças e adolescentes, com picos de incidência nos menores de quatro anos. **Palavras-chave:** Leucemia linfóide aguda; crianças; epidemiologia.

347. DIFERENÇAS ENTRE ADULTOS E IDOSOS COM LMA: RELEVÂNCIA DA CITOGENÉTICA

Serehi DC, Yamamoto M, Oliveira AR, Rodrigues MM, Rohr S, Chauffaille ML

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

Introdução: As LMAs são doenças neoplásicas clonais geneticamente heterogêneas, caracterizadas por alterações somáticas nas células progenitoras hematopoéticas que modificam os mecanismos de autorrenovação, proliferação e diferenciação normais dessas células. O conhecimento de aspectos genéticos da doença é importante para o entendimento da sua biologia. A incidência da LMA aumenta com o avançar da idade. Em nosso serviço cerca de 20% dos casos eram de idosos (> 60 anos), mas, recentemente, observa-se um aumento. **Objetivo:** Avaliar a frequência das diferentes alterações citogenéticas em pacientes adultos e idosos com LMA e correlacioná-los com as características clínicas, o alcance da remissão e o prognóstico. **Material e métodos:** Foram incluídos 43 pacientes adultos, 13 idosos com LMA diagnosticada em conformidade com a OMS (2008). O estudo foi aprovado pelo CEP e os pacientes incluídos após a assinatura do termo de consentimento. As amostras de MO e/ou SP foram colhidas, ao diagnóstico, e divididas para cariótipo e Fish. A média de idade foi de 51 anos, porém como 13 (30,2%) eram idosos, esse grupo apartado apresentou média de idade de 74. Separados por sexo, a média de idade das mulheres foi maior do que a dos homens (75 versus 72). A relação entre sexos foi 1:1 e se manteve no grupo de idosos. **Resultados:** Os subtipos de LMA mais frequentes foram: LMA relacionada a mielodisplasia (23,2%), LMA com componente monocítico (14%), LMA não especificada (11,6%), LPA (9,3%) e leucemia mielomonocítica aguda (9,3%). No grupo dos idosos, a LMA relacionada à mielodisplasia representou 53,8% dos casos e a leucemia mielomonocítica aguda, 15,4%. Obteve-se resultado de cariótipo em 31 pacientes (72,1%), dos quais 1/3 eram normais. Entre os idosos, o cariótipo foi alterado em 46,2%, normal em 30,8% e não informativo em 23%. Nos casos não informativos foi feita a Fish, que foi alterada em 16,6%. No caso dos idosos, esse teste aumentou para 61,6% a porcentagem de alterados. Pela estratificação de risco, 16,3% eram de prognóstico favorável, 46,5% intermediário, 25,6% desfavorável e em 11,6% não foi possível fazer tal avaliação. **Discussão:** Esses resultados

demonstram que as alterações genéticas encontradas aproximam-se do esperado na literatura. Quando comparados com as taxas de remissão, 71,2% dos pacientes com prognóstico favorável atingiram RC, enquanto no grupo desfavorável somente 27,3% não foram a óbito e apenas um paciente alcançou RC. Com relação aos idosos, nenhum caso tinha prognóstico favorável, 61,5% eram intermediários e 30,8% desfavoráveis. A taxa de óbito foi de 61,5% e a ausência de remissão foi de 30,8%. A proporção de idosos encontrada foi maior do que a descrita em trabalhos anteriores do serviço (23%), porém ainda abaixo da encontrada na Europa, onde se observa mais da metade dos casos de LMA em idosos. Conforme os dados do IBGE de 2013, a maior frequência de idosos com LMA se deve à modificação na pirâmide etária brasileira, com um crescimento de 55% na quantidade de brasileiros com 60 anos ou mais. **Conclusão:** O subtipo mais frequente nessa casuística, qual seja de LMA relacionada à mielodisplasia, está dentro do esperado, uma vez que existe uma frequência bem estabelecida desse subtipo com o avanço da idade e confirma o prognóstico desfavorável das LMAs em idosos.

348. STROMAL SUPPORT LEADS TO APOPTOSIS RESISTANCE OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA CELL LINES ML1 AND OCI/AML3 UNDER HYPOXIA IN VITRO

Malafaia EC^a, Kerbauy D^a, Karopongse E^b, Marcondes M^b, Deeg J^b

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

^b Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, United States

Background: Acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndrome (MDS) are myeloid malignancies that are characterized by acquired clonal disorders in hematopoietic progenitors. Recent advances have provided important insights into the pathogenesis of AML and MDS in regards to genetic aspects and bone marrow microenvironment interaction.¹ Oxygen is a fundamental component of the microenvironment of tumors. Niches in bone marrow, where quiescent hematopoietic stem cells (HSC) reside, are known to be hypoxic and have been described as a sanctuary for leukemia cells, conveying drug resistance and a proliferative advantage.² **Aim:** In order to evaluate spontaneous apoptosis of acute myeloid leukemia cell lines in conditions that mimic the bone marrow microenvironment, these cell lines were cultivated under hypoxia with or without stromal cell line support. **Methods and results:** The acute leukemia myeloid cell lines PL21, ML1, and OCI/AML3 were incubated in their respective media for 24 hours under oxygen concentrations of 21% (normoxia) and 1% (hypoxia). Apoptosis was assessed by annexin V–phycoerythrin and propidium iodide (BD Biosciences, USA). All cell lines had increased spontaneous apoptosis (annexin +, PI - %) under hypoxia compared with normoxia: PL21 16.4 vs. 10.8; ML1 32.8 vs. 9; OCI/AML3 18.3 vs. 8.7. To determine if stroma support would change the pattern of apoptosis under hypoxia conditions, cell lines were cultured for 24 hours under normoxia and hypoxia, with or without contact with HS5 stroma cells. Co-cultured cells were trypsinized, and hematopoietic cells were labeled with CD45+ beads and sorted using an autoMACS[®] separator (Miltenyi Biotec). In presence of HS5 stroma, ML1 and OCI/AML3 have shown apoptosis resistance under hypoxia when placed in contact with stromal cell (ML1, 8.4 vs. 7.2; OCI/AML3, 18.4 vs. 13.8, normoxia vs. hypoxia, respectively). Conversely, HS5 cell support did not provide survival advantage to PL21 cells (14.6 vs. 22.8). **Conclusions:** Increased spontaneous apoptosis was observed in all acute myeloid leukemia cell lines at low level of oxygen concentration (PO₂ 1%). However, when three types of cell lines were placed with stroma cell line HS5, two of them (ML1 and OCI/AML3) have demonstrated resistance to apoptosis. Tabe Y et al. (2013) have shown similar findings in the MV4;11 cell line cultured with primary mesenchymal stem cells. These data suggest that hypoxia and stroma together provide a survival advantage for some myeloid cell lineages. **Funding:** Emilia Carolina Malafaia was supported by CAPES scholarship number 3346-13-7.

References:

- Wouters BJ, Lowenberg B, Delwel R. A decade of genome-wide gene expression profiling in acute myeloid leukemia: flashback and prospects. *Blood*. 2009;113(2):291-8.
- Konopleva MY1, Jordan CT. Leukemia stem cells and microenvironment: biology and therapeutic targeting. *J Clin Oncol*. 2011;29(5):591-9.
- Tabé Y, Shi YX, Zenq Z, Jim L, Andreeff M, Konopleva M. TGF- β -neutralizing antibody 1D11 enhances cytarabine-induced apoptosis in AML cells in the bone marrow microenvironment. *PLoS One*. 2013;8(6):e62785. Print 2013.

349. ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS NO EXON 4 DO TP53 COM ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Bezerra MF^{a,b}, Lima ASM^a, Silva JLC^a, Nascimento JCFD^{a,b}, Neto PLF^a, Costa CRR^{a,b}, Machado CGF^{c,d}, Lucena-Araujo AR^a, Bezerra MAC^a, Beltrão EIC^{a,b}

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

^b Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (Laki), Recife, PE, Brasil

^c Universidade de Pernambuco (UFP), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: A proteína TP53, conhecida por seu papel na regulação do controle do ciclo celular e da apoptose, encontra-se frequentemente mutada em mais de 50% dos tumores humanos sólidos. Contudo, o impacto de mutações somáticas em seu gene (TP53) ainda é pouco explorado nas doenças hematológicas, em especial a leucemia mieloide aguda (LMA). Apesar disso, variações polimórficas do gene TP53 são comuns na população em geral, principalmente no codon 72 do exon 4, alvo de um sítio polimórfico que apresenta duas variantes, arginina (ARG) e prolina (PRO). A literatura descreve a variante PRO como mais efetiva nas funções de senescência e controle de ciclo celular, enquanto a variante ARG desempenha melhor a função de apoptose. Ambas as variantes podem estar relacionadas à tumorigênese, a depender da biologia do tumor em questão. Alguns estudos têm avaliado a associação entre os polimorfismos e a ocorrência da leucemia mieloide aguda. No entanto, poucos avaliaram sua relação com as características clínico-laboratoriais dessa doença de biologia heterogênea. **Objetivo:** Avaliar uma possível relação dos polimorfismos do exon 4 do gene TP53 com os aspectos clínico-laboratoriais, tais como leucometria, mutações recorrentes, subtipo FAB, idade ao diagnóstico, alcance da remissão completa, recaída e morte precoce, em pacientes atendidos na Fundação HEMOPE. **Material e métodos:** A extração de DNA foi feita pelo método de fenol-cloróformio adaptado. As amostras empregadas foram de medula óssea ou sangue periférico de pacientes adultos com LMA coletadas ao momento do diagnóstico. Os casos de leucemia promielocítica aguda e LMA secundária foram excluídos. Para a análise molecular, foi usado PCR-RFLP com a enzima Bstul, seguida de eletroforese em gel de agarose 1%. O **software** usado para análise estatística foi o SPSS v19. **Resultados:** Em uma amostragem de 56 pacientes, a frequência dos genótipos foi 29% de ARG/ARG, 44% de ARG/PRO e 27% de PRO/PRO. O genótipo ARG/ARG teve associação, em intervalo de confiança de 95%, com mutações no gene NPM1 ($p = 0,031$). Para os demais parâmetros avaliados, não foi encontrada correlação. **Conclusão:** Segundo a literatura, a proteína NPM1 interage com a p53 e atuam em conjunto na regulação da apoptose. Nossos resultados sugerem que, por causa dessa interação, a variante ARG pode favorecer o efeito de mutações no NPM1 de maneira mais efetiva do que a variante PRO.

350. PERFIL CLÍNICO-LABORATORIAL E SOBREVIDA DOS PACIENTES COM LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA ATENDIDOS NO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA SAÚDE DA PUC-SP

Franco RL, Filogonio OS, Lucena RV, Cliquet M, Vecina AFC

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) caracteriza-se pelo acúmulo de promielócitos anômalos na medula óssea, provenientes da translocação recíproca entre os cromossomos 15 e 17, que envolvendo o gene do receptor do ácido retinóico e leva ao bloqueio da maturação granulocítica. O tratamento da LPA mudou drasticamente com a introdução do ácido transretinoico e alcançou taxas de remissão completa > 90% e sobrevivida livre de progressão em cinco anos > 70%. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo de 14 pacientes atendidos consecutivamente no Serviço de Hematologia da FCMS-PUC-SP com o diagnóstico de LPA entre janeiro de 2005 e fevereiro de 2014 e dados coletados submetidos a análise estatística. **Resultados:** A mediana de idade dos pacientes ao diagnóstico foi de 28 anos (16 a 55). Houve um discreto predomínio do sexo feminino (1,3:1). Os sintomas predominantes foram fraqueza (84%), seguidos por hemorragia (80%) e febre (54%). A maioria apresentava-se anêmica (92%), com mediana de Hb de 8,35 g/dL. A mediana de leucócitos foi de 2.050/mm³ (38% com > 5.000/mm³) e de plaquetas 29.000/mm³. (83% < 50.000/mm³). Quanto ao TP e TTPA, 36% iniciaram o tratamento com esses exa-

mes prolongados. Em relação à resposta ao tratamento, a taxa de RC foi de 85% e a sobrevivida livre de progressão foi de 71% em cinco anos (mediana ainda não atingida em oito anos de seguimento). A síndrome do ATRA ocorreu em 43% da nossa população, com desfecho fatal em apenas um caso (7%). As variáveis que se correlacionaram com mau prognóstico foram: sexo feminino ($p = 0,0282$), idade acima da mediana ($p = 0,0476$) e a não obtenção de RC ($p = 0,0285$), enquanto o nível do INR ao diagnóstico não teve impacto na sobrevivida ($p = 0,1198$). **Conclusão:** Nossa população, como descrito na literatura, apresentou-se bem mais jovem do que nas outras LMAs e os sintomas referentes à coagulopatia também se encontraram entre os predominantes. As taxas de RC e SLP se assemelham às descritas por grandes grupos internacionais. Os fatores que se correlacionaram com mau prognóstico foram o sexo feminino, a idade acima da mediana e a não obtenção de RC.

351. PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO, HEMATOLÓGICO E SAZONAL DAS LEUCEMIAS AGUDAS

Chaves VP^a, Oliveira LR^a, Resende GAD^a, Souza HM^a, Silva SS^{a,b}, Martins PRJ^{a,b}

^a Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brasil

^b Hemocentro Regional de Uberaba, Fundação Hemominas, Uberaba, MG, Brasil

Introdução: Leucemias são neoplasias malignas que alteram a divisão/diferenciação hematopoiética, com proliferação de blastos, que passam a constituir 20% ou mais da celularidade medular. Classificam-se em mieloide ou linfóide e aguda ou crônica. As leucemias agudas (LA) incidem em 2-3/100.000 habitantes/ano, surgem de forma idiopática ou como evolução de outras hemopatias. Dividem-se em leucemia linfóide aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA) e leucemia aguda bifenotípica (LAB). A patologia consiste em mutações que alteram o ciclo celular e o fenótipo das células hematopoiéticas pluripotentes. Estudos mostram uma possível influência sazonal na incidência de LA, se pensarmos se em mudanças sazonais dos fatores imunológicos. Alguns sugerem um pico de LMA na primavera e uma incidência menor no verão. Outros relatam um aumento durante o inverno. Quanto à LLA, sugere-se aumento de casos no verão. No entanto, os resultados são inconsistentes e com poucos relatos na literatura. Além disso, faltam estudos que demonstrem a relação entre incidência e sazonalidade da LA em nosso País. Assim, este trabalho poderá contribuir para conhecer melhor o perfil dos pacientes atendidos na Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) e observar a sazonalidade do diagnóstico dos diferentes tipos de LA. **Objetivo:** Caracterizar o perfil dos pacientes com LA e avaliar a mortalidade e sazonalidade. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo, analítico e descritivo do prontuário de 52 pacientes com LA atendidos na UFTM de 2008 a 2014. **Resultados:** Predominou o sexo masculino, cor branca, 36,5% de crianças e adolescentes e 63,5% de adultos e idosos, com sinais e sintomas de anemia, febre, infecção, esplenomegalia, adenomegalia, hepatomegalia, hemorragia e dor óssea, em ordem decrescente de frequência. Foi comum hemoglobina de 7 a 10 mg/dL, leucocitose com presença de blastos no sangue, plaquetopenia e medula óssea com mais de 50% de células blásticas. Na citocímica, houve 36,75% de positivos para mieloperoxidase, 34,75% Sudan Black e 55,00% PAS, com predomínio de PAS em LLA, Sudan Black e mieloperoxidase em LMA. Na imunofenotipagem, havia 47% de LLAs; 47% LMAs e 6% LABs. Dos óbitos, 82% foram por infecções e/ou hemorragias. Sazonalmente, houve dois picos: no verão (LMA) e na primavera (LLA), com mais casos em janeiro. **Discussão:** O perfil clínico epidemiológico, hematológico, citocímico e imunofenotípico encontrados corroborara a literatura, assim como as causas de óbito analisadas. A sazonalidade encontrada neste estudo divergiu de relatos feitos em outros continentes, que apresentam pico de LMA no inverno e LLA no verão. **Conclusão:** É importante o estudo multicêntrico no Brasil, para elucidar essa sazonalidade. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

352. ASSOCIAÇÃO ENTRE DELEÇÕES NOS GENES GSTT1 E GSTM1 E CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-LABORATORIAIS DA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Bezerra MF^{a,b}, Lima ASM^a, Oliveira MM^a, Martins DAP^a, Neto PLF^a, Machado CGF^{c,d}, Andrade ATC^a, Beltrão EIC^{a,b}, Bezerra MAC^a, Lucena-Araujo AR^a

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

^b Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (Lika), Recife, PE, Brasil

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

^d Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma doença heterogênea sob os pontos de vista clínico e biológico. Sua origem é multicausal, porém sua predisposição está relacionada principalmente a fatores genéticos e ambientais, entre os quais destacando-se a exposição a substâncias genotóxicas e radiações ionizantes. As glutatona-S-transferases (GST) são enzimas de biotransformação de fase II e têm como função transformar substâncias genotóxicas em compostos menos reativos e solúveis em água. Exercem, dessa forma, efeito protetor sobre o ambiente intracelular e o material genético. Polimorfismos nos genes GSTT1 e GSTM1 resultam na inativação dessas enzimas, com consequente acúmulo de substâncias tóxicas danosas ao DNA. Entre esses polimorfismos, as deleções são o tipo mais frequente e já foram associadas a um maior risco de desenvolvimento de várias doenças crônicas e malignas. A literatura apresenta resultados consideravelmente heterogêneos, por causa, principalmente, da variação na frequência populacional dos polimorfismos analisados. Ao contrário de outras doenças onco-hematológicas, tais como leucemia linfóide aguda e leucemia mieloide crônica, a LMA parece não ter associação com os polimorfismos investigados. Raros estudos investigaram a relação entre as glutatona transferases e as características clínico-laboratoriais da LMA. **Objetivo:** Avaliar a relação dos polimorfismos dos genes GSTT1 e GSTM1 com o desenvolvimento da LMA, aspectos clínico-laboratoriais da doença e desfecho clínico (remissão completa, recaída e mortalidade precoce e sobrevida). **Material e métodos:** Foram incluídos no trabalho 103 com LMA de novo e 197 controles não leucêmicos. A extração de DNA foi feita pelo método de fenol-cloróformio adaptado. As amostras empregadas foram de medula óssea ou sangue periférico de pacientes adultos com LMA coletadas ao diagnóstico. Os casos de leucemia promielocítica aguda e LMA secundária foram excluídos das análises. Para a análise molecular, foi usado PCR multiplex para GSTT1 e GSTM1. **Resultados:** As frequências das deleções nos genes GSTT1 e GSTM1 foram, respectivamente, 23% e 40% nos casos de LMA e 20% e 43% nos controles. Não houve diferença na frequência de mutação nos genes GSTT1 e GSTM1 entre casos e controles ($p = 0,556$); contudo, observou-se uma associação da deleção no GSTM1 com a ocorrência com a mutação FLT3-ITD ($p = 0,002$) e da deleção no gene GSTT1 com ausência de hiperleucocitose ($p = 0,024$). **Conclusão:** Nosso estudo mostrou resultados contraditórios: enquanto a deleção da GSTT1 desfavorece a hiperleucocitose, a deleção GSTM1 está associada a mutações do tipo ITD no gene FLT 3, o qual se encontra frequentemente associado a uma maior contagem de leucócitos em pacientes com LMA ao diagnóstico. Vale ressaltar que nossos resultados são preliminares. Fazem-se necessários estudos complementares.

353. TELOMERE LENGTH IN PATIENTS WITH ACUTE PROMYELOCYTIC LEUKEMIA

Alves-Paiva RM, Lucena-Araujo AR, Scatena NF, Rego EM, Calado RT

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Telomeres are hexameric nucleotide repeats in tandem at the ends of linear chromosomes whose functions are to protect and prevent genomic DNA erosion. Telomeric DNA can be elongated by the telomerase complex, which is composed of a reverse transcriptase catalytic subunit (TERT), an RNA template (TERC), and associated proteins. Mutations or loss of function in genes of telomerase complex is a leading cause of telomeres shortening and have been associated with several human pathologies, including severe aplastic anemia and dyskeratosis congenita, two diseases that predispose to acute myeloid leukemia. However, very scarce information is available regarding telomere length variations in hematological malignancies, especially in acute promyelocytic leukemia (APL), and its clinical significance is unknown. Here, the telomere length was retrospectively determined in samples from APL patients collected at the Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, University of São Paulo, and its relationship with clinical and laboratory features, hematologic recovery, relapse, and survival were analyzed. Seventy-four APL patients (age 15-65 years) were included in the study. The treatment schedule was in accordance with previous report (Blood 2013, 121(11) pp: 1935). As controls, peripheral

blood cells from 254 healthy donors (age 0-87 years) were collected. The telomere measurement of all samples (controls and patients) was determined by real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) using the Rotor-Gene SYBR Green PCR Master Mix. This technique uses a single-copy gene (36B4) to calculate the telomere measurement and provides the result as T/S ratio. To define the telomere length on APL samples, the total cohort was divided into percentiles according to high (> 10% percentile) or low levels (< 10% percentile) of T/S ratio. The T/S ratio was significantly lower in APL patients compared with healthy donors samples ($p < 0.01$). There were no relevant differences on telomere length between APL patients with or without FLT3 mutation. Overall, 61 subjects (82.4%) achieved complete remission. Patients with telomere length (T/S ratio) below the 10% percentile had significantly long time to achieve CR rate than patients with telomere length above the 10% percentile (17.6% vs. 82.4%). Telomere length had no impact on disease-free survival rate ($p = 0.65$). The present findings showed shorter telomeres in most APL patients, when compared to healthy controls, corroborating the hypothesis that telomere shortening could be involved with genomic instability and malignancies transformation. Telomere measurement may indicate a strong relationship with the prognosis of the disease. Since telomere attrition and telomerase mutations have been predicted as a molecular mechanism to promote genomic instability and predisposing to cancer development, it is important to accurately investigate the telomeric biology in diseases as APL, in order to establish new and simpler biomarkers that could also be helpful to guide more effective therapies.

354. PERFIL COMPORTAMENTAL DESFAVORÁVEL INFLUENCIANDO NA RECIDIVA DA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA

Bigolin A, Steffenello-Durigon G, Rudolf-Oliveira RCM, Oliveira MR, Del-Moral JAG, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um subtipo distinto de leucemia mieloide aguda (LMA), caracterizado pela presença de um acúmulo de promielócitos anormais na medula óssea e/ou no sangue periférico, com risco de coagulopatia e a presença da translocação recíproca e balanceada entre os cromossomos 15 e 17 t(15;17)(q22;q12) ou variantes. A introdução de agentes terapêuticos que atuam diretamente na alteração molecular, como o ácido all-trans-retinoico (ATRA) e o trióxido de arsênio (ATO), teve um grande impacto na sobrevida dos pacientes com LPA. Nos últimos anos, o curso clínico da LPA tem sido modificado de uma leucemia aguda rapidamente fatal para um dos subtipos de LMA mais curáveis. No entanto, os índices de recidiva ainda apresentam-se entre 7% e 20% dos casos de LPA, o que sugere um pior prognóstico e consequente causa de morte. **Objetivo:** Avaliar retrospectivamente os dados clínicos e laboratoriais de 44 pacientes portadores de LPA, diagnosticados e tratados no Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) de 2001 a 2013 e verificar fatores relacionados à possibilidade de recidiva nesses pacientes. Com os dados obtidos, encontrou-se um índice cumulativo de recidiva hematológica de 8,3% em dois anos, dado compatível com o apresentado na literatura. **Resultados:** Dos 22,2% casos de recidiva (três hematológicas, três moleculares e uma hematológica e extramedular) neste estudo, 37,5% dos pacientes apresentavam perfis comportamentais adversos. Na análise estatística de 26 possíveis fatores prognósticos relacionados com a ocorrência de recidiva, foi observada significância estatística em quatro fatores. A análise univariada demonstrou que os pacientes que faziam uso crônico de álcool, 50% tiveram recaída, assim como os pacientes que usavam drogas ilícitas associadas ao álcool ($p = 0,004$) e os pacientes que abandonaram o tratamento ($p = 0,03$), também recidivaram. Dos 12 pacientes que tiveram sinais e sintomas de sepse, quatro (33,3%) apresentaram recidiva. A maioria dos pacientes recidivados foi manejada com esquemas que continham o trióxido de arsênio (ATO). Dessa forma, o uso prévio de drogas, o abandono de tratamento e a presença de sepse foram importantes fatores prognósticos para a recidiva da doença, bem como o uso prévio de álcool mostrou uma tendência à recidiva. **Conclusão:** A recidiva da doença parece estar relacionada também ao comportamento social dos pacientes, associado ao abandono de tratamento e à possibilidade de retorno da doença.

355. LEUCEMIA BASOFÍLICA AGUDA SECUNDÁRIA A LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA – RELATO DE CASO

Alves EB^a, Oliveira BL^b, Bezerra JAAC^b, Andrade EN^b, Pimentel JPD^c, Santos AMFD^c, Ferreira YA^c

^a Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

^b Fundação Centro de Oncologia do Amazonas (FCECON), Manaus, AM, Brasil

^c Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brasil

Introdução: Leucemia basofílica aguda é uma forma rara de leucemia mieloide aguda (LMA) e corresponde a menos de 1% dessas leucemias. Pode ocorrer *de novo* ou ser secundária a doenças mieloproliferativas, entre elas a leucemia mieloide crônica (LMC). Clinicamente, apresenta infiltração cutânea e organomegalias, lesões líticas e sintomas relacionados à hiper-histaminemia podem estar presentes. Os poucos casos acompanhados foram associados com um prognóstico pobre. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 44 anos, diagnosticada com LMC com a translocação t(9;22)(q34.1;q11.2) em 1995. Apesar do uso do imatinibe, acredita-se que de forma regular, a paciente sempre apresentou a t(9;22) e BCR-ABL do tipo b3a2 nas avaliações feitas. Em 2011 mantinha resposta citogenética menor com o achado da t(9;22) em 45% das células. Progrediu, então, para a fase acelerada e passou a fazer uso de dasatinibe, após constatada resistência ao imatinibe. No fim de 2012 passou a fazer uso de nilotinibe por causa da nova resistência ao medicamento em uso. Em janeiro de 2014, com piora do quadro hematológico, foi diagnosticada como LMA. O hemograma apresentava Hb: 10 g/dL; Ht: 29%, plaquetas: 228,0 x 10³/μL e WBC: 60,6 x 10³/μL com 80% de células imaturas, pleomórficas, com finos grânulos basofílicos citoplasmáticos, a exemplo da medula óssea (MO), que era hiperclular, com presença de 66% dessas células. Na imunofenotipagem da MO por citometria de fluxo, os blastos expressaram CD13, CD33, CD123hi, CD203 e CD11b. Além desses, CD117low, CD25, CD34 e HLADR (apenas 25%) foram positivos. CD22hi e CD7 foram expressos de forma anômala e os demais antígenos associados à linhagem mieloide, linfóides B e T, foram negativos. O resultado do cariótipo foi 45,XX,-7,t(9;22)(q34.1;q11.2) [3] / 46,XX [10]. A paciente recebeu o protocolo 3 + 7 para LMA, retornou para a fase crônica da doença e reiniciou nilotinibe. Recente avaliação revelou nova progressão para crise blástica. **Discussão:** O diagnóstico inicial de LMC, a presença de células imaturas de aspecto basofílico e a citogenética com Ph+ levaram à investigação de LMA com diferenciação basofílica pela imunofenotipagem. Essas leucemias expressam fenótipo mieloide e são usualmente CD123 de alta intensidade, CD117 de baixa intensidade e CD25 positivo. **Conclusão:** A presença desses marcadores, junto com a do CD203, marcador associado à linhagem basofílica, contribuiu para a conclusão diagnóstica de leucemia basofílica aguda secundária a LMC.

356. ANÁLISE CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA UNICÊNTRICA DE PORTADORES DE LEUCEMIA/LINFOMA DE CÉLULAS T DO ADULTO

Cordeiro AC, Lage LAPC, Xavier FD, Pereira J

Serviço de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A ATLL (adult T-cell leukemia/lymphoma, leucemia/linfoma de células T do adulto) está associada à infecção pelo retrovírus HTLV-1 (Human T-lymphotropic virus-1), com intervalo médio estimado entre infecção e desenvolvimento da doença de 20-40 anos. **Objetivo:** Analisar retrospectivamente 30 casos de ATLL do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da FM-USP de 1999 a 2014. Havia 56,7% de mulheres e 43,3% de homens; 63,4% eram brancos, 23,3% negros, 10% asiáticos e 3,3% pardos. A idade média ao diagnóstico foi de 50 anos. **Resultados:** O subtipo mais frequente em nossa amostra foi o agudo (36,7%), seguido de 23,3% *smoldering*, 20% crônico e 20% linfomatoso. A maior frequência dos casos *smoldering* pode se justificar pela detecção precoce no ambulatório de portadores de HTLV identificados entre candidatas a doação de sangue, bem como pela consideração de dois indivíduos com imunofenotipagem alterada e monoclonalidade para células T/inserção monoclonal do DNA proviral do HTLV no genoma do linfócito hospedeiro. As características epidemiológicas foram semelhantes entre os subgrupos. Hepatoesplenomegalia, DHL elevada,

hipercalcemia e adenomegalias foram observadas com maior frequência nas formas aguda e linfomatosa. Os pacientes com a forma aguda apresentavam escores de Levine mais altos: 40% apresentavam lesões cutâneas, metade dessas confirmadas histologicamente como neoplásicas. Três pacientes apresentaram estrogênio, três hepatite B, um hepatite C e um HIV. Nenhum paciente apresentava paraparesia espástica tropical. Dos 11 pacientes com a forma aguda, 10 receberam quimioterapia e um recebeu a combinação interferon + zidovudina como primeira linha e dois foram submetidos a transplante de medula óssea alogênico. Todos os pacientes com a forma aguda evoluíram para óbito após um período médio de 8,24 meses (1,2 a 17,3). Todos os pacientes com a forma linfomatosa foram submetidos a quimioterapia, com 50% de óbito por progressão da doença e sobrevida média de 19,18 meses (1,07 a 59,03). Os pacientes com forma crônica iniciaram tratamento com interferon + zidovudina, porém 50% deles receberam quimioterapia por progressão da doença e um por intolerância ao interferon. Ocorreram dois óbitos e a sobrevida média foi de 29,04 meses (10,07 a 58,27). Dos pacientes com forma *smoldering*, apenas um recebeu interferon + zidovudina por causa de lesões cutâneas exuberantes e os demais foram mantidos em observação. Um paciente foi a óbito por evolução para forma aguda após 10 anos de seguimento como portador de HTLV e a sobrevida média foi de 35,6 meses (de 2,63, no paciente que evoluiu para forma aguda, a 78,9). Se excluirmos desta análise o paciente que evoluiu para a forma aguda, a sobrevida média no subgrupo *smoldering* seria de 43,12 meses. A sobrevida global foi de 19,83 meses, um pouco maior do que a relatada na literatura brasileira, provavelmente por causa da maior proporção dos casos *smoldering*. **Conclusão:** Nossos dados são consistentes com os da literatura que demonstram o prognóstico reservado dos pacientes com ATLL e evidenciam a necessidade de pesquisar opções terapêuticas.

357. NEOPLASIA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS BLÁSTICAS PLASMOCITOIDES – RELATO DE CASO

Ferreira YA^a, Fraiji NA^a, Pimentel JPD^a, Santos AMFD^a, Alves EB^b

^a Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brasil

^b Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

Introdução: A neoplasia de células dendríticas blásticas plasmocitoides é uma doença clinicamente agressiva, derivada de precursores de células dendríticas plasmocitoides, com alta frequência de infiltração cutânea (quase 100% dos casos), medula óssea (MO) e sangue periférico (60% a 90%) e linfonodos (40% a 50%). É rara entre as neoplasias hematológicas e representa menos de 1% das leucemias agudas. Caracteriza-se pela expressão de CD4/CD56 na ausência de qualquer marcador específico de linhagem mieloide e linfóide B e T. **Relato de caso:** Paciente masculino, 87 anos, encaminhado pelo dermatologista com história de lesão de pele única do tipo placa nodular eritemato-acastanhada, localizada em região lateral do tronco esquerdo havia cerca de seis meses, com diagnóstico imuno-histoquímico de linfoma B de alto grau de grandes células com achados plasmablastos. Após, apresentou queda do estado geral e sintomas de anemia, sem outras alterações. Hemograma com pancitopenia (Hb: 7,3 g/dL, plaquetas: 9 x 10³, WBC: 1,6 x 10³, diferencial com 53% de blastos. Alteração de DHL (3,145 U/L), ferritina (761,5 ng/mL), β-2 microglobulina (> 4 mg/mL), ureia (64 mg/dL) e creatinina (1,7 mg/dL). Ao mielograma observou-se infiltração da MO por células blásticas (81%), de tamanho médio, núcleo regular com dois a três nucléolos evidentes, citoplasma intensamente basofílico, alguns com projeções. A imuno-histoquímica da lesão de pele mostrou Ki-67+, CD45RB+, CD4 focalmente+, PAX-5+ e CD56- e levou à conclusão de linfoma B de alto grau. O cariótipo, pela técnica de banda G, mostrou 45,XY,-20 [3]/46,XY [17]. A imunofenotipagem da MO por citometria de fluxo mostrou CD4, CD56, CD123 positivos, além de CD36, CD7, CD34 e HLADR. Os antígenos citoplasmáticos e de superfície de linhagem mieloide, linfóide B e os demais da linhagem T foram negativos. O paciente foi a óbito dias após o diagnóstico. **Conclusão:** Embora o exame imuno-histoquímico apresentasse positividade para PAX-5, marcador de célula B, na imunofenotipagem não foi demonstrada positividade para nenhum dos antígenos de linhagem B. Com base na apresentação clínica do paciente com envolvimento de múltiplos sítios, como pele, MO e SP, como também na imunofenotipagem positiva para CD4/CD56/CD123 com ausência de marcadores mielóides, de linhagem B e T, concluiu-se pelo diagnóstico de neoplasia de células dendríticas

blásticas plasmocitoides, apesar de não terem sido testados outros antígenos associados a essas células, como CD303 e TCL1, importantes para o seu diagnóstico.

358. SINGLE CELL NETWORK PROFILE ALLOWS TO DISTINGUISH LEUKEMIC AND NORMAL HEMATOPOIETIC STEM CELLS AND MAY GUIDE MINIMAL RESIDUAL DISEASE DETECTION IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Benício MTL^a, Silva CLA^b, Scheucher PS^a, Garcia AB^a, Falcao RP^a, Rego EM^a

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

An apparently successful acute myeloid leukemia (AML) treatment is frequently followed by disease relapse, suggesting that current therapeutic strategies appear to have reached the limit of their effectiveness. Accumulating evidence supports a role for leukemia stem cells (LSC) in therapeutic failures. Therefore, it could be hypothesized that targeted elimination of LSCs would be an efficient therapeutic approach to eradicate AML. Also, in the majority of AML cases, there is no marker to be tracked for minimal residual disease (MRD) detection, which impairs an early therapeutic intervention in case of relapse. A surface marker that allows for the identification of LSC is not yet known, and its definition is essentially functional. MRD detected during complete remission was enriched for the CD34+CD38-ALDH^{int} leukemic cells, and the presence of these cells after therapy was highly correlated with subsequent clinical relapse. The authors took advantage of this approach to isolate LSCs and normal hematopoietic stem cells (HSC), and evaluated the applicability of single cell network profile (SCNP) to distinguish HSCs and LSCs and to identify signaling patterns that could be clinically relevant. Twelve AML samples at diagnosis were sorted into two cell subsets, CD34+CD38-ALDH^{int} (LSC) and CD34+CD38-ALDH^{high} (HSC), and an equivalent number of cells from each subpopulation were further used in two procedures: transplantation into NSG mice, to evaluate their stemness potential; and stimulation with G-CSF, SCF or IL-6, for signaling evaluation by multiparametric flow cytometry. Normal and leukemic stem cells present different signaling profiles in response to the previously mentioned stimuli. Also, both cell subsets were enriched with long-term repopulating cells, since cells from both compartments could be detected in the transplanted mice after eight weeks. However, no response pattern associated to engraftment efficiency or disease outcome was identified. The present results show that signaling profile is a suitable tool for distinguishing normal from leukemic stem cells. Given the well-known heterogeneity of AML, a higher number of patients must be studied in order to establish the clinical relevance of studying signaling pathways in LSC. **Funding:** FAPESP.

359. EFICÁCIA DE DECITABINA EM PAUTA LONGA PARA TRATAMENTO DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA: EXPERIÊNCIA DE UM CENTRO

Gusmão BM, Silveira MP, Hyppolito JE, Helman R, Esteves I, Santos FPS, Perini GF, Ferreira FM, Hamerschlag N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Os agentes hipometilantes (azacitidina, decitabina) se converteram em uma opção segura e eficaz de tratamento para pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA) não candidatos a tratamentos quimioterápicos agressivos. Existem vários estudos de modificação de dose e dias de tratamento com os agentes hipometilantes. **Objetivo:** Com base nos resultados obtidos por Blum et al. (2010), apresentar uma experiência de 11 casos tratados com indução de 10 dias de decitabina (DEC) e que receberam consolidação de cinco ou 10 dias, de acordo a resposta conseguida com a indução. **Material e métodos:** Revisamos 11 pacientes com LMA tratados com DEC entre junho de 2010 e agosto de 2014. O esquema usado foi DEC 20 mg/m² x 10 dias na indução e as pautas de consolidação foram DEC 20 mg/m² x cinco dias para os pacientes que alcançaram remissão citológica e 10 dias para os que não. Eram LMA *de novo* 36,4% e 63,6% eram LMA segunda (dois mielofibrose, quatro SMD e um LMMC). Todos os pacientes eram masculinos, com uma mediana de 82 anos (69-

86). Dos pacientes, 36,4% apresentavam alterações citogenéticas ao diagnóstico e de acordo com a European Leukemia Net (ELN), seis eram de risco favorável, um intermediário e três de alto risco, 54,5% tinham > 30% de blastos ao diagnóstico. 45,4% haviam recebido tratamento previamente e 91% tinham algum tipo de comorbidades (quatro cardiopatia, dois cardiopatia + nefropatia, dois cardiopatia + pneumopatia, um hipertensão e um hepatopatia). **Resultados:** Foram administrados 47 ciclos em pacientes com uma mediana de três (um-10). Todos tiveram efeitos secundários durante o tratamento, o mais frequente foi a neutropenia febril (63%) e houve uma morte precoce (< oito semanas) associada a insuficiência hepática em paciente com antecedente de hepatopatia. De acordo com ELN, com a indução em 10 dias, tivemos uma taxa de resposta global de 72,7% (duas respostas completas com remissão citogenética; duas respostas completas; quatro respostas completas com recuperação hematológica incompleta; uma resposta parcial) e três casos de doença refratária (um deles foi submetido a transplante alogênico e conseguiu remissão completa) e os pacientes que receberam ≥ dois ciclos de decitabina adquiriram independência transfusional. A hematopatia prévia, a dependência transfusional e o número de blastos > 30% ao diagnóstico não tiveram influência na resposta ao tratamento de indução. Com um tempo máximo de seguimento de 1.148 dias e uma mediana de 340 dias (161,2-518,8), dos 11 pacientes quatro foram a óbito e obtivemos uma sobrevida global de 63,6%. **Conclusão:** O tratamento de indução de LMA com decitabina em pauta de 10 dias apresenta alta taxa de respostas com boa tolerância e bom perfil de segurança. Apesar da pequena amostra de pacientes, a decitabina parece ter um papel importante no tratamento das LMA, com resultados esperançosos até nas LMA de mau prognóstico. São necessários estudos comparativos para confirmar a modificação da pauta convencional.

360. THE EFFECT OF A LIPID NANOEMULSION WITH INDUCED DIFFERENTIATION DRUGS IN HL60 PROMYELOCYTIC LEUKEMIA CELL LINE

Almeida CP^{a,b}, Morikawa AT^c, Pinto GS^a, Aguiar SM^a, Maranhão RC^c, Pranke P^{a,b,d}

^a Hematology and Stem Cell Laboratory, Faculty of Pharmacy,

^b Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil

^c Laboratório de Metabolismo Lipídico, Instituto do Coração (InCor), São Paulo, SP, Brazil

^d Stem Cell Research Institute. Porto Alegre, RS, Brazil

The genetic alterations in hematopoietic stem cells (HSCs) can cause acute leukemia of the lymphoid or myeloid lineages, such as acute myeloid leukemia (AML). Acute promyelocytic leukemia (APL), a subtype of AML known as AML M3, presents a high mortality rate. Differentiation therapy is used for treatment of APL with all-trans retinoic acid (ATRA). Dimethyl sulfoxide (DMSO) is used as a drug vehicle and also demonstrates differentiation capability. Although ATRA is able to induce complete remission of APL, it cannot eliminate the leukemic clone, and its combination with other drugs must be used. The use of a cholesterol-rich nano-emulsion, termed LDE, similar to low-density lipoprotein (LDL), has been tested as a vehicle for antineoplastic drugs with the advantage of inducing slow and controlled drug liberation, diminishing their toxicity. Daunorubicin (DNR) is a drug used for treating APL patients, but its use is limited because of its high toxicity. The increased expression of the LDL receptors in the majority of the neoplastic cells promotes the use of DNR incorporated in the LDE with the aim of directing the drug to the sick cells and reducing the toxicity of the DNR on the normal cells. The aim of this study is to verify if the presence of LDE can influence the process of differentiation of the HL60 lineage (a human line of APL) when treated with ATRA and DMSO. The use of LDE to transport DNR without affecting the cellular differentiation process, which is part of the APL treatment, will be investigated. LDE was prepared in accordance with standard procedures. The cells were cultivated at a concentration of 10⁶ cells in six well plates. After 24 h, the cells received six different treatments: Group 1 (G1): Control (cells only), Group 2 (G2): LDE (160 µL), Group 3 (G3): DMSO (1.25%, v/v), Group 4 (G4): LDE (160 µL) + DMSO (1.25%, v/v), Group 5 (G5): ATRA (1 µL) and Group 6 (G6): LDE (160 µL) + ATRA (1 µL). For the immunophenotypic characterization, the following human antibodies were used: CD34, CD38, CD45, CD90, CD117, and HLA-DR, using FACSAria III flow cytometry and FACSDiva 6.1.3 software (BD Biosciences). For cellular proliferation evaluation, before and after the treatment, Ki-67 nuclear protein expression by flow cytometry was determined. The

experiment is in progress and the results refer to Groups 1 to 4, not including the groups with ATRA. The first preliminary results are beginning to suggest that there is no modification in the expression of CD34, CD38, CD90, and HLA-DR markers after the treatments. The treatments appear to indicate some change in the expression of the CD45 marker in comparison with the control. Though no conclusive statement can be made at present, the ongoing experiment will show if LDE could be a good alternative as a drug vehicle with no interference in the differentiation process when used concomitantly with the treatment. It is therefore hoped to develop a new form of treatment for APL through the use of a drug that is already efficiently used for the treatment of this subtype of leukemia. However, a solution is needed for reducing the problem of the toxicity of the daunorubicin to reduce the mortality and morbidity rate of APL, which is considered one of the highest within the AML group.

Funding: CNPq, CAPES, FAPERGS, and the Stem Cell Research Institute.

361. LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA PRÉVIA X LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA CASO NOVO

Silva ACC, Recova VL, Silveira CAP, Vasconcelos RS

Hospital de Base do Distrito Federal, Brasília, DF, Brasil

Relato de caso: M.R.S.S., 34 anos, casada, procedente de Valparaíso (GO). Antecedente de leucemia promielocítica aguda, risco intermediário t(15; 17)(q22, q21), diagnosticado em setembro de 2011. Submetida a protocolo Pethema de setembro de 2011 a março 2014 com remissão completa, com PCR para PML-RARA negativo em 4 de junho de 2014. Vinha em seguimento clínico quando, em consulta em julho de 2014, foi verificada provável leucemia mieloide aguda de novo ou leucemia mieloide crônica relacionada à terapia. Diante do diagnóstico de LMA, cariótipo monossomia do 7 e PML-RARA negativo. Iniciado protocolo Flag em 21 de julho de 2014. Investigação familiar verificou que irmão da paciente tem HLA compatível. Mielograma (4/7/2014): medula óssea hiperclular, com 23,6% de blastos com características mieloides, compatíveis com leucemia mieloide aguda. A morfologia não é sugestiva de leucemia promielocítica aguda. Mielograma (9/7/2014): sugestivo de leucemia mieloide aguda M6 (LMA M6, pela FAB)/leucemia eritroide aguda (OMS, 2008). Sinais de displasia de linhagem. Imunofenotipagem (9/7/2014): amostra hemodiluída, 4,8% de blastos mieloides. IFMO (16/07/14): 11,2% de células blásticas (CD34+, HLA-DR+) com expressão de antígenos mieloides (CD13+, CD33+, CD34+, CD38+, CD71a fraco, CD117+, CD123+, MPO+). Mielograma (16/7/2014): medula óssea hiperclular, com aumento de blastos (23%) com características mieloides, compatíveis com leucemia mieloide aguda (LMA-M6, classificação FAB). PML-RARA de julho de 2014: não detectado. No momento, está em internação hospitalar, por causa de neutropenia febril, em uso de Tazocin e aguarda avaliação de transplante de medula óssea alogênico.

LINFOMA DE HODGKIN

362. LINFOMA DE HODGKIN REFRACTÁRIO EM USO DE BRENTUXIMABE EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Pêcego HN^{a,b}, Solza C^{a,b}, Silva CE^{a,b}, Tavares DO^{a,b}, Santos MJFD^{a,b}, Leite CA^{a,b}, Lyrio R^{a,b}, Melo KV^{a,b}, Lucena SBG^{a,b}, Maioli MCP^{a,b}

^a Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

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

Introdução: O linfoma de Hodgkin (LH) é caracterizado histopatologicamente pela presença das células de Reed-Sternberg (CD30+), associada a um ambiente celular inflamatório característico. Com os avanços na radioterapia e o uso de quimioterapia combinada, houve um aumento significativo na taxa de resposta. Cerca de 80% dos pacientes recém-diagnosticados com menos de 60 anos têm chance de cura. Contudo, 5% a 10% serão refratários e 10% a 30% irão recair após alcançar resposta completa. Nesses casos, a quimioterapia combinada de alta intensidade seguida de transplante autólogo de medula óssea (TAMO) é a terapia mais indicada. Os pacientes com progressão ou recaída após TAMO apresentam um pior prognóstico e até pouco tempo apresentavam poucas possi-

bilidades terapêuticas. Nesse contexto, surgiu o brentuximabe, um anticorpo monoclonal anti-CD30 conjugado a uma molécula monometil auristina E, indicado para os casos de LH refratário após TAMO, que apresenta taxas de resposta de 75%, além de sobrevida global de 40,5 meses. **Relato de caso:** R.A.M., sexo feminino, 20 anos, parda, católica, solteira, estudante, natural do RJ, procurou atendimento em julho/2008 com quadro de linfonodomegalia cervical de 3 cm associada a sintomas B e prurido intenso, com cerca de seis meses de evolução. Os exames de imagem demonstraram acometimento cervical, torácico e abdominal, além de nódulos pulmonares. Com a biópsia do gânglio foi diagnosticada LH clássico esclerose nodular, estadiado como IV B. Apresentava International Prognostic Score (IPS) de 3, com sobrevida livre de progressão, estimada em cinco anos, de 60%, e uma sobrevida global de 78%. Iniciou tratamento quimioterápico com ABVD em julho/2008. Apresentou resposta parcial após o segundo ciclo. No entanto, em reavaliação após o oitavo ciclo, em julho/2009 (PET-CT+), foi constatada doença refratária. Foi então iniciada quimioterapia de resgate com ICE, com proposta de consolidação com duplo TAMO por causa do caráter agressivo da doença. Em junho/2010, após o segundo TAMO, manteve resposta completa. No entanto, na reavaliação após um ano, em junho/2011 apresentou PET-CT positivo. Em virtude da nova recaída após TAMO e da ausência de doador compatível para transplante alogênico, foi iniciado esquema paliativo, com GDP e, em seguida, com etoposide oral, com pouco controle dos sintomas e das massas por cerca de dois anos, até nova progressão. Em outubro/2013 foi discutida a possibilidade do início do brentuximabe. Em fevereiro/2014 foi iniciado o tratamento com brentuximabe, na dose de 1,8 mg/kg, IV no D1, a cada 21 dias. A paciente não apresentou qualquer intercorrência durante a infusão do medicamento, apenas discreto aumento de escórias nitrogenadas, que foi associado à lise tumoral durante os primeiros ciclos e com resolução espontânea sem qualquer terapêutica específica. Em reavaliação após o quarto ciclo, com PET-CT, apresentava redução de cerca de 75% das massas, além de melhoria dos sintomas, independência transfusional e melhoria significativa da qualidade da vida.

363. LINFOMA DE HODGKIN: TRATAMENTO E EXPECTATIVAS

Ericeira MAL, Mendes MVG, Alencar LCR, Santos NS, Mendes JHP, Dumont SVR, Marins JB, Abreu KC, Nóbrega IBAG, Nicolau DI

Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, MA, Brasil

Introdução: Define-se linfoma de Hodgkin (LH) como uma neoplasia monoclonal de células B, caracterizada pela presença de células anômalas chamadas células Reed-Sternberg. O sintoma inicial mais comum é o aumento indolor dos linfonodos (linfadenopatia) no pescoço, na porção superior do peito, no mediastino, nas axilas, no abdômen e na virilha. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o linfoma de Hodgkin é composto por dois grupos distintos de doença: o com predomínio linfocítico nodular (LHPLN), o qual representa cerca de 5% do total de casos, e a forma "clássica", que é subclassificada em esclerose nodular, celularidade mista, rico em linfócitos (RL) e depleção linfocitária (DL). O tratamento dessa patologia se baseia em quimioterapia, radioterapia ou, ainda, nas duas terapêuticas em associação. Por causa da sua relevância para o cenário nacional, torna-se necessária a produção e atualização de conhecimentos acerca de tal enfermidade. **Objetivo:** Analisar os principais sintomas e os tratamentos empregados atualmente em pacientes acometidos por linfoma de Hodgkin; Apresentar informações recentes de relevância imediata para aqueles envolvidos no estudo e tratamento dos pacientes com linfoma de Hodgkin. **Material e métodos:** Estudo feito por meio de uma revisão de literatura de artigos retirados das bases de dados SciELO, LILACS e MEDLINE publicados de 2006 a 2014 que abordavam o tema. Fez-se a análise desses dados e avaliaram-se conceito, descrição dos sintomas mais relatados, diagnóstico, prognóstico e tratamentos mais usados. **Resultados:** A suspeita clínica de LH ocorre mediante histórico do paciente e exame físico e o diagnóstico definitivo é feito por meio de biópsia. Além da linfadenopatia, outros sintomas que podem estar presentes incluem febre, fadiga persistente, sudorese noturna, perda de peso e prurido. Em alguns casos, o uso da imunofenotipagem pode auxiliar a distinguir o LH de outros tipos de linfomas ou mesmo de outras reações não cancerígenas em linfonodos. O papel dos métodos de imagem tem sido avaliar o envolvimento de linfonodos, da medula óssea e de órgãos, bem como avaliar a eficácia do tratamento instituído. O esquema de tratamento dependerá principalmente do subtipo e do estadiamento da doença, o qual varia do Estágio I, que representa o envolvimento de um único grupo

de linfonodos ou de um único órgão, até o Estágio IV, no qual há envolvimento de linfonodos e outros órgãos, como pulmões, fígado e/ou medula óssea. A administração de quimioterapia seguida de radioterapia, o chamado tratamento combinado, tornou-se a opção mais empregada. Dois dos principais esquemas quimioterápicos são o ABVD (adriamicina, bleomicina, vimblastina e dacarbazina) e o Beacopp (bleomicina, etoposide, adriamicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbazona e prednisona). O LH tem alta chance de cura. Entretanto, alguns pacientes recidivam após terapia primária ou, menos frequentemente, tornam-se refratários. Para pacientes que apresentam recidiva, o transplante autólogo de medula óssea é a principal opção terapêutica. **Conclusão:** Apesar dos diversos desafios que ainda persistem na compreensão da biologia da doença e na determinação de opções que aumentem a eficácia terapêutica e minimizem as toxicidades, extraordinários avanços já foram obtidos no tratamento do LH, o qual apresenta, atualmente, taxa de cura superior a 75%.

364. EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIADA DE MICRORNAS EM LINFOMA DE HODGKIN

Berg AVVD, Magalhães L, Vidal A, Menezes VVDB, Santos ARD

Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: Os microRNAs (miRNAs) são RNA endógenos filamentosos que não codificam proteínas e são capazes de degradar mRNA alvo ou reprimir a sua tradução e regular negativamente a expressão gênica em nível pós-transcricional. Atualmente estão relacionados com vários tipos de câncer com ação na proliferação, apoptose e invasão das células tumorais, assim como há evidências de aumentar a quimiossensibilidade de agentes anticâncer. Os miRNAs podem estar hiper ou hipoexpressos nos tumores e, desse modo, agem como proto-oncogenes ou supressores de tumor, respectivamente. **Objetivo:** Avaliar o perfil de expressão de cinco microRNAs (*hsa-miR-9*, *hsa-miR-20a*, *hsa-miR-21*, *hsa-miR-26a* e *hsa-miR-155*) em sete pacientes com linfoma de Hodgkin tipo clássico, por meio da técnica de PCR em tempo real. Adicionalmente, comparar os resultados do perfil, dos cinco miRNAs de pacientes, com os de 16 indivíduos controles sem linfoma de Hodgkin. **Material e métodos:** Todas as amostras foram coletadas no Laboratório de Genética Humana e Médica da Universidade Federal do Pará (UFPA). Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Os resultados compararam os perfis de expressão dos cinco miRNAs. Usou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para a identificação da melhor distribuição, paramétrica ou não paramétrica. Posteriormente, aplicou-se o teste estatístico adequado para a análise (teste t de amostras independentes ou Mann-Whitney), nos qual os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significantes. **Resultados:** Os miRNAs *hsa-miR-26a* e *hsa-miR-155* demonstraram que o perfil de expressão observado entre as amostras de linfoma foram significativamente diferentes das amostras controles (*hsa-miR-26a*, $p \leq 0,027$; Mann-Whitney; *hsa-miR-155*, $p \leq 0,043$; teste t amostras independentes). Portanto, nossos resultados sugerem que os microRNAs *hsa-miR-26a* e *hsa-miR-155* são biomarcadores do linfoma de Hodgkin. **Conclusão:** O aumento do número amostral e a finalização da análise dos dados ainda são necessários para confirmação dos resultados. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Paraná (FAPESPA), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

365. PRIMARY GASTRIC CLASSICAL HODGKIN LYMPHOMA (CHL) FOLLOWED BY DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA OF THE COLONIC WALL - CLINICAL, HISTOLOGICAL AND MOLECULAR STUDIES

Scheliga A^a, Oliveira LG^a, Barros MHM^b, Romano SO^c, Emmel V^b, Hassan R^b, Stefanoff CG^d

^a Serviço de Oncologia Clínica, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^b Laboratório de Oncovirologia do Centro de Transplantes de Medula Óssea (CEMO), Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^c Divisão de Patologia (DIPAT), Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^d Serviço de Pesquisa Clínica/CGEP, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

The authors report on a male patient (34 years of age) diagnosed with primary gastric cHL at the Instituto Nacional do Câncer (INCA), who,

after treatment, evolved to diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) in the left colon. The patient reported epigastralgia, vomiting, evening fever, and weight loss of 15 kg. On physical examination, the patient showed good performance status (ECOG 1), mucocutaneous pallor +/4+, pain on epigastric palpation, and no peripheral lymphadenopathy or hepatosplenomegaly. Laboratory results were as follows: hemoglobin 8.4 g/dL, hematocrit 27.4%, WBC 20,030/mm³ (neutrophil 17,266/lymphocyte 701), platelets 555,000/mm³, albumin 3.0 g/dL, LDH 400 IU, β_2 microglobulin 2.5 IU, and VHS 50. Serology was negative for HIV1/2, and hepatitis B and C. Upper gastric endoscopy showed infiltrative and ulcerated lesion from the cardia to the angular incisure. CT scan showed concentric and diffuse thickening of the gastric wall, with multiple retroperitoneal lymphadenopathy. The pathological diagnosis was cHL, nodular sclerosis subtype. Neoplastic cells were positive for CD15, CD30, CD20, PAX5, MUM1, and OCT2, and were ALK-negative. There was no association with EBV and *H. pylori*. Bone marrow biopsy was negative and the final staging unfavorable IIEB. The patient received six cycles of ABVD chemotherapy regimen. PET/CT scan analysis after treatment showed a diffuse increased of FDG18 uptake in gastric fundus, greater curvature, and a proximal portion of the small curvature, with 8.5 SUV, compatible with partial response. The patient was then submitted to radiotherapy for residual disease (CXR). Three months after CXR, he showed complete response (CR), confirmed by gastric biopsy. A year after the end of CXR, the patient was admitted to the emergency room with acute intestinal obstruction. He underwent to an exploratory laparotomy which revealed obstructive and ulcerated tumor in the left colon, and subsequently underwent left colectomy and lymphadenectomy. The pathological diagnosis was DLBCL. Neoplastic cells were positive for CD20, PAX5, MUM1, and Bcl2, and negative for CD10, CD30, CD15, and ALK. Clinical staging showed IIE, IPI stage 1. He received six cycles of chemotherapy with Rituximab (R-QT) with two additional R cycles, evolving with CR three years after the last cycle of chemotherapy in CR. Clonality studies of both tumors disclosed an immunoglobulin rearrangement (IR) of the same size, suggesting clonal relatedness between the cHL and the DLBCL. No clonal product was detected in the peripheral blood at the time of first diagnosis. Adjacent non-tumoral gastric tissue exhibited an oligoclonal pattern of IR. After subcloning, the same IR was observed in both lymphomas (VH1), except for two nucleotide changes in the DLBCL sequence. GIT is the most common site of extranodal lymphoma, corresponding to 5-20% of all cases, the vast majority non-Hodgkin's, as with most common subtype DLBCL. However, cHL is rarely described as primary lymphoma of the stomach, found in the literature only as case reports. Molecular findings allow for raising two hypotheses: one is the concomitant existence of cHL and DLBCL in the chronically stimulated gastric tissue, with subsequent molecular evolution and clonic homing of the DLBCL clone; the second is the derivation of the DLBCL from a H-RS-like cell resistant to therapy. **Funding:** FAPERJ Proc. E-26/111.429/2012; GlaxoSmithKline (GSK).

366. LINFOMA DE HODGKIN PODE SER DIAGNOSTICADO POR CITOMETRIA DE FLUXO? – IDENTIFICAÇÃO DE CÉLULAS DE HODGKIN/REED-STERNBERG POR CITOMETRIA DE OITO CORES

Sandes AF^a, Oliveira CRG^b, Zacchi FFS^a, Maekawa YH^a, Oseki KT^a, Rizzatti EG^a

^a Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital Sírio Libanês, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A análise de amostras de linfonodo por citometria de fluxo multiparamétrica é uma ferramenta útil para o diagnóstico multidisciplinar de linfoma não Hodgkin (LNH) e permite um diagnóstico rápido e preciso dessa entidade, diferenciando-a de casos com adenomegalia reacional. Contudo, a citometria de fluxo tradicionalmente não é capaz de distinguir linfonodos reacionais de casos de linfoma de Hodgkin e estudos anatomopatológicos são essenciais para um diagnóstico conclusivo. Recentemente, o grupo de Seattle desenvolveu um novo ensaio imunofenotípico com CFM de nove cores, capaz de identificar diretamente as células de Hodgkin/Reed-Sternberg (células HRS) de pacientes com linfoma de Hodgkin clássico (LHC). **Objetivo:** Avaliar a utilidade da CFM no diagnóstico de LHC em amostras de linfonodo. **Material e métodos:** Foram consecutivamente avaliadas por CFM e estudo anatomopatológico 37 amostras de linfonodo. Inicialmente, um tubo de oito cores para triagem de LNH-B e T foi feito em todos os casos. Se a triagem de LNH fosse nega-

tiva, um segundo tubo composto por CD15-PB, CD45-PO, CD30-FITC, CD64-PE, CD20-PerCP-Cy5, CD95-APC, CD40-PE-Cy7 e CD3-APC-H7 era feito para a avaliação de LHC. Após o preparo, as amostras foram processadas no citômetro FACSCanto II com aquisição de pelo menos 300.000 eventos por caso. A análise foi feita no **software** Infinicyt. Os seguintes critérios foram usados para definir uma população de células HRS: (i) expressão de CD30, CD40⁺⁺⁺ e CD95⁺⁺⁺; (ii) FCS e SSC elevados; (iii) exclusão de doublets com um dot-plot FCS-A versus FCS-H; (iv) ausência de expressão de CD64; (v) CD20 negativo ou de fraca expressão; e (vi) formação de um cluster com no mínimo 30 eventos. **Resultados:** Foram diagnosticados como LNH-B 19 casos e um caso como LNH-T por CFM e anatomopatologia, com concordância dos dois exames em todos os casos. Nos casos restantes, dez foram diagnosticados com LHC e sete como linfonodomegalia reacional por histopatologia. CFM identificou corretamente as células HRS em oito casos de LHC, com número mediano de 0,13% de células HRS (0,01%-0,5%). Nenhum caso de linfonodomegalia reacional apresentou células HRS detectadas por CFM. A sensibilidade, a especificidade, o valor preditivo positivo e o valor preditivo negativo da CFM para o diagnóstico de LHC foram de 80%, 100%, 100% e 77,7%, respectivamente. Além disso, a CFM demonstrou um fundo inflamatório composto por eosinófilos, neutrófilos (CD15+) e macrófagos/monócitos (CD64+) em 7/8 dos casos positivos e deu apoio ao diagnóstico de LHC. **Conclusão:** A detecção de células HRS por citometria de fluxo é simples, rápida (menos de uma hora) e viável e pode ser facilmente incorporada na rotina laboratorial. Potencializa a capacidade diagnóstica da citometria de fluxo de diferenciar casos normais/reacionais de casos neoplásicos.

367. IMPACTO PROGNÓSTICO DO VALOR DAS IMUNOGLOBULINAS NA LLC

Mayumi VE, Rocha TMBS, Fortier SC, Pinto MSG, Mo SKG, Chiattonne CS

Santa Casa de Misericórdia, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Alterações nos níveis de imunoglobulina são frequentemente encontradas na LLC e pode ocorrer hipogamaglobulinemia ou hipergamaglobulinemia policlonal ou monoclonal. A maioria dos pacientes apresenta ao diagnóstico e durante o curso do tratamento diminuição nos níveis normais de imunoglobulina. Todas as três classes (IgG, A e M) são afetadas, porém os subtipos mais afetados são IgG3 e IgG4, e a gravidade da hipogamaglobulinemia aumenta conforme a duração e o estágio da LLC. Existe uma correlação direta entre níveis baixos de IgG e uma maior incidência e gravidade de infecções bacterianas. Deficiências de IgA e IgG4 têm sido associadas a uma frequência aumentada de infecções respiratórias e o IgG3 é importante na proteção contra infecções por Herpes.² Apesar da clara associação com complicações infecciosas, o significado prognóstico da hipogamaglobulinemia é controverso e diversos estudos que tentaram correlacionar esse achado com as taxas de sobrevida na LLC demonstraram resultados contraditórios. **Objetivo:** Avaliar e correlacionar com o prognóstico os valores de imunoglobulina ao diagnóstico nos pacientes portadores de LLC. **Material e métodos:** O trabalho foi retrospectivo e feito a partir de dados coletados de prontuário de pacientes portadores de LLC acompanhados na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo de 2004 a 2014. Foram incluídos 169 pacientes e nove foram excluídos por falta de informações em prontuário. Foram avaliados os níveis séricos de IgA, IgM e IgG e correlacionados com outros marcadores prognósticos, como COOMBS direto e b2microglobulina. **Resultados:** Com um seguimento de 52 meses, amostra de 160 pacientes teve sobrevida global de 77%. Tinham dosagens baixas de todos os sorotipos de imunoglobulinas 55% dos pacientes, 24% aumento monoclonal de imunoglobulina e 22% aumento policlonal. Não houve relação entre hipogamaglobulinemia e sobrevida. Na análise dos subtipos, IgG alta ou baixa não teve relação com sobrevida; IgM baixa os pacientes apresentaram menor sobrevida (p 0,04) e IgM alta TBE não teve relação com sobrevida. Com relação a IgA, os valores alterados tiveram relação com prognóstico e sobrevida (IgA alta p = 0,008 e baixa p < 0,001). Valores alterados de IgA tiveram relação direta com estadiamento pior de RAI e Binet e quando colocados na análise multivariada, os estadiamentos de RAI (p = 0,002) e IgA alterada foram os únicos fatores relacionados a pior sobrevida. Na análise de COX, as únicas variáveis com significados estatísticos associados a pior sobrevida foram b2microglobulina aumentada, Coombs direto positivo e níveis alterados de IgA. **Conclusão:** Nesta coorte de pacientes com LLC, níveis alterados de IgA tiveram correlação significativa, nas análises uni e multivariadas, com pior prognóstico e menor sobrevida dos pacientes.

Referências:

1. Rozovski U, Keating MJ, Estrov Z. Targeting inflammatory pathways in chronic lymphocytic leucemia. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;88(3):655-66.
2. Dearden C. Disease-specific complications of chronic lymphocytic leukemia. *Hematology*. 2008;450-6.
3. Shvidel L, Tadmor T, Braester A, Bairey O, Rahimi-Levene N, Herishanu Y, et al. Serum immunoglobulin levels at diagnosis have no prognostic significance in stage A chronic lymphocytic leucemia: a study of 1113 cases from the Israeli CLL Study Group. *Eur J Hematol*. 2014;93(1):29-33.

368. BEACOPP MODIFICADO: EXPERIÊNCIA DE UM CENTRO

Franco BT, Rocha TMBS, Fortier SC, Pinto MSG, Chiattonne CS, Mo SKG
Santa Casa de Misericórdia, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Pacientes com linfoma de Hodgkin estágio avançado ainda têm prognóstico reservado, com taxas de resposta ao tratamento e sobrevida global ruins. O uso de esquemas mais intensivos de tratamento é uma tentativa de melhorar a chance de cura desses pacientes. Hoje se discute se os maiores efeitos adversos advindos desses esquemas justificam seu uso de forma rotineira nos pacientes de alto risco. O esquema atualmente mais usado é o Beacopp escalonado. Como esse esquema usa a medicação procarbazina não disponível no mercado brasileiro atualmente, o serviço da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo faz uso da medicação dacarbazina no esquema tradicional. **Objetivo:** Avaliar resposta, sobrevida, efeitos tóxicos e fertilidade dos pacientes que foram tratados com Beacopp escalonado modificado na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. **Material e métodos:** Trabalho retrospectivo de centro único feito no Hospital da Santa Casa de São Paulo de setembro de 2006 a junho de 2014, no qual foram analisadas resposta, toxicidade, fertilidade e sobrevida dos pacientes com LH avançado com IPS ≥ 3 tratados com regime Beacopp escalonado modificado. **Resultados:** Foram avaliados dados de 14 pacientes, 50% de cada sexo e mediana de 27 anos. Todos tinham sorologia negativa para o vírus HIV. A maioria (85%) tinha estágio IV e 50% tinham IPS 5. Metade dos pacientes apresentava massa **bulky** ao diagnóstico e 14% tinham MO acometida pelo linfoma. O valor médio da PCR ao diagnóstico foi de 9,3 e do VHS foi de 66. Atingiram resposta completa com esse esquema 71% dos pacientes, 14,9% resposta parcial e dois pacientes não tiveram resposta disponível para avaliação. Três tiveram internação por neutropenia febril, dois com melhora e um com desfecho fatal. Não foi feita avaliação hormonal dos casos, porém duas pacientes do sexo feminino e, mais importante, um paciente do sexo masculino tiveram gravidez após o tratamento com esse esquema. Com um seguimento **up** de 26 meses, essa coorte teve dois óbitos, um por neutropenia febril e outro por progressão de doença com sobrevida global de 83,1%. **Conclusão:** Apesar do pequeno número de pacientes e do pequeno seguimento **up** dos casos, sem possibilidade de avaliação de toxicidade tardia, os dados corroboram a eficácia e segurança do esquema de Beacopp modificado com o uso da medicação dacarbazina nos pacientes portadores de linfoma de Hodgkin estágio avançado.

Referências:

1. Von Tresckow B, Engert A. Refractory Hodgkin lymphoma. *Curr Opin Oncol*. 2013 Sep;25(5):463-9.
2. Uhm J, Kuruvilla J. Treatment of newly diagnosed advanced stage Hodgkin lymphoma. *Blood Rev*. 2012;26(4):167-74.
3. Casasnovas O, Coiffier B. Escalated BEACOPP in advanced Hodgkin's lymphoma. *Lancet*. 2012(9828);12:379:1767-8.

369. MACROPHAGE POLARIZATION IN PEDIATRIC CLASSICAL HODGKIN LYMPHOMA: CLINICAL IMPACT AND CROSS-TALK WITH LYMPHOCYTES AND TUMOR CELLS

Segges P^a, Barros MHM^b, Vera-Lozada G^a, Stefanoff CG^a, Hassan R^a

^a Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^b Institute for Pathology, Unfallkrankenhaus Berlin, Berlin, Germany

Introduction: Classical Hodgkin lymphoma (cHL) is a B-cell neoplasm characterized by two components, the malignant (Hodgkin-Reed-Sternberg, H-RS) cells, which comprise 1% to 2% of the tumor mass, and an intense inflammatory infiltrate, the tumor microenvironment (TME). TME has been increasingly recognized as a pathogenic factor in cancer

development and progression, and its composition has been related to therapy response in cHL. Intratumoral macrophages are a heterogeneous cell population, and their role in cHL clinical behavior is still controversial. **Objectives:** To investigate the macrophage polarization (MP) in the TME of pediatric cHL and its impact on survival, and to identify potential mechanisms of cross-talk between TME and H-RS cells. **Methodology:** MP was analyzed by double-immunohistochemistry (IHC) based on the combination of CD68 or CD163 with pSTAT1 (M1-like macrophages), or CMAF markers (M2-like macrophages). Specific lymphocytes subpopulations (cytotoxic, Th1, Th2, and Tregs) were analyzed by quantitative IHC. H-RS cells were characterized by IHC in respect to cell cycle and apoptosis markers. The results were analyzed in the context of demographic and histological characteristics, EBV-status, and clinical follow-up. **Results:** 100 cHL cases were studied. The most prevalent subtype was nodular sclerosis (69%) and 44.8% of cases were EBV-positive. M1-like oriented TME (CD68+pSTAT1+/CD68+CMAF+ / CD163+pSTAT1+/CD163+CMAF+ ratio >1.5) exhibited higher numbers of cytotoxic lymphocytes (TIA1+ and GRZB+; $p = 0.001$) and higher numbers of CD8+ lymphocytes ($p = 0.002$). EBV+ cases exhibited higher numbers of CD68+pSTAT1+ ($p = 0.02$). Better overall-survival was observed in cases with high numbers of CD163+pSTAT1+ macrophages ($p = 0.02$, Log-rank); while high numbers of CD163+CMAF+ macrophages were associated with worse progression-free survival (PFS) ($p = 0.02$). Cases exhibiting higher numbers of M1-like macrophages also had an increased rate of H-RS apoptosis (CASPASE-3+ and TUNEL+ cells) ($p = 0.008$ and $p = 0.09$; Spearman's correlation), while high numbers of M2-like macrophages were associated with a H-RS high proliferative index ($p = 0.004$). **Conclusions:** The present results suggest that: (i) CD163 is not a M2-specific marker in all settings and, in pediatric cHL, the polarization of macrophages may depend on EBV status and T-cell composition of the TME, (ii) the macrophage polarization status may add clinical information, with high numbers of M2-like intratumoral macrophages, but not M1-like macrophages, being associated with worse prognosis, and (iii) a pro-inflammatory profile and enrichment of intratumoral M1-like macrophages in cHL may be associated with increased H-RS apoptosis, which may partly explain the favorable clinical outcome associated with this population in pediatric cHL. Due to the heterogeneity observed in macrophage populations, and their potentially distinct clinical and biological roles, a cautionary note has to be made against the development of macrophage-targeted therapies until the biological and clinical meaning of macrophage subpopulations are better described. **Funding:** INCT para Controle do Câncer (Grants CNPq 573806/2008-0 and FAPERJ E26/170.026/2008).

370. PERFIL DOS PACIENTES COM LINFOMA DE HODGKIN EM UMA INSTITUIÇÃO UNIVERSITÁRIA DO CENTRO-OESTE

Farias DLC^a, Sousa JF^a, Amaral CAD^a, Tavares RS^a, Alcântara KC^b

^a Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

^b Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: O linfoma de Hodgkin (LH) corresponde a 10-15% dos linfomas. Tem caráter bimodal e afeta principalmente adultos jovens. Classifica-se em LH clássico (LH-C) (95%), com quatro subtipos (esclerose nodular [em], rico em linfócitos [RL], celularidade mista [CM] e depleção linfocitária [DL]) e LH predominância linfocitária nodular. A maioria é curada com quimioterapia, associada ou não a radioterapia. Estudos epidemiológicos são importantes para a criação de políticas de saúde. **Objetivo:** Analisar aspectos clínicos e laboratoriais dos pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC-UFG). **Material e métodos:** Revisão dos casos de LH diagnosticados no HC/UFG entre janeiro de 2007 e agosto de 2013. Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC/UFG. **Resultados:** Foram avaliados 33 pacientes dos 38 tratados no período (86,4%), pela perda de seguimento de cinco casos. A maioria (66,7%) era do gênero masculino, com mediana de 26 anos e 45,5% da Grande Goiânia. Todos apresentavam LH-C: 63,6% LH-C EM, 21,2% LH-C CM, 6,1% LH-C DL e 3% LH-C RL. Dois casos (6,1%) não foram subclassificados. Sintomas ao diagnóstico: sintomas B em 71,9%, massa mediastinal em 46,9%, envolvimento de medula óssea em 12,1% e grande massa (**bulky**) em 48,5%. Estadiamento: doença precoce em 30,4%

(15,2% estágio clínico - EC I e 15,2% EC II) e avançada em 69,6% (21,1% EC III e 48,5% EC IV). Para a doença precoce, foram avaliáveis 50% dos casos (cinco em 10). Desses, quatro (80%) tinham doença favorável pelas escalas GHSH, EORTC, NCIC e NCCN e um paciente (20%) tinha prognóstico desfavorável pelas escalas NCIC e NCCN e favorável para GHSH e EORTC. Para os com doença avançada, o Escore Prognóstico Internacional (**International Prognostic Score – IPS**) foi favorável (0-1 fator) em 5,6%, intermediário (2-3) em 44,4% e desfavorável (4-7) em 50. Todos receberam ABVD e radioterapia foi feita em 39,4%. Remissão completa (RC) foi obtida com a primeira linha de tratamento em 81,8%. Os demais pacientes com doença progressiva (seis casos, 18,2%) receberam segunda linha de tratamento com esquemas variados, com RC em somente um caso (16,7%) e óbito nos outros cinco (83,3%). A taxa de cura global foi de 84,8% (28 casos) e óbito 15,2% (cinco casos). Todos os casos de óbito tinham doença avançada ($p = 0,004$), com IPS intermediário (20%) e desfavorável (80%). Três (60% dos óbitos) tinham LH-C CM, um (20%) LH-C DL e um sem classificação. Os casos de óbito tinham, ao diagnóstico, menor mediana dos leucócitos totais ($p = 0,05$), linfócitos ($p = 0,003$), monócitos ($p = 0,01$) e do valor de albumina ($p = 0,04$). Não houve diferença entre hemoglobina ou relação linfócito/monócito inferior a 1,1. **Discussão:** Assim como na literatura, houve predominância de pacientes jovens com LH-C EN. Entretanto, a maioria foi admitida com estágio avançado e prognóstico desfavorável. Quase metade dos pacientes apresentava grande massa (doença **bulky**) e quase dois terços sintomas B. Embora a taxa de RC seja elevada, o diagnóstico tardio implica maior quantidade de quimioterapia, maior toxicidade em curto e em longo prazo e redução da sobrevida total. **Conclusão:** A maioria dos pacientes com LH chega ao HC-UFG em estágio avançado e com prognóstico desfavorável, o que demonstra a importância do conhecimento de tal realidade para o estabelecimento de políticas de saúde que melhorem o diagnóstico e o tratamento de tais pacientes.

371. LINFOMA DE HODGKIN – AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E RESPOSTA AO TRATAMENTO EM DOIS DIFERENTES PERÍODOS DE 15 ANOS

Pitombeira MH, Costa CMBE, Quixadá AT, Sousa JH, Filho FDR, Vasconcelos SL, Carvalho LEM, Silva FAC, Dantas ELR, Duarte FB

Hospital Universitário Walter Cantídio, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: Avanços significativos na terapia do linfoma de Hodgkin (LH) foram documentados desde a introdução dos protocolos de combinação quimioterápica, das mudanças nas estratégias de irradiação e do desenvolvimento do transplante de medula óssea (TMO) autólogo. **Objetivos:** Analisar possíveis mudanças nas características epidemiológicas e avaliar a eficácia do tratamento em pacientes com LH, adultos, diagnosticados, tratados e em acompanhamento no nosso serviço, nos períodos 1 (1984 a 1998) e 2 (1999 a 2013). **Material e métodos:** O diagnóstico foi feito por biópsia de linfonodo, de medula óssea, de pele ou do baço e classificado como: PL (predomínio de linfócitos); EN (esclerose nodular); CM (celularidade mista); DL (depleção de linfócitos). O estadiamento (EC) foi com estudo do mediastino por radiografia do tórax e/ou tomografia computadorizada (TC) e a região abdominal, por ultrassonografia e/ou TC, a depender da época do diagnóstico. A quimioterapia usada no período 1 foi EBVM MP ETOP, MOPP, MOPP/ABV, CVPP e no período 2, ABVD. Tempo de doença (TD) foi considerado entre o primeiro sintoma referido e o diagnóstico. A remissão completa (RC) foi considerada a regressão completa dos tumores palpáveis ou documentados histologicamente e de todas as anormalidades radiográficas e bioquímicas relacionadas à doença por um mínimo de três meses; remissão parcial quando persistiam alguns sinais iniciais; e atividade da doença quando não houve resposta ao tratamento ou mesmo evolução do quadro. **Resultados:** Análise de 451 pacientes, 224 no período 1 e 227 no período 2. Os pacientes foram estratificados de acordo com a faixa etária: período 1: 18 a 44 anos (159-71%); 45 a 59 anos (43-19,2%) e ≥ 60 anos (22-9,8%); e no período 2: 18 a 44 anos (195-86%); 45 a 59 anos (21-9,2%) e ≥ 60 anos (11- 4,8%). No período 2 ocorreu discreto aumento do gênero feminino (37,9 x 45,8%); não houve diferença no TD, procedência Fortaleza e sintomas B; houve discreto aumento das formas avançadas no período 2: I+II (117-52,2%) e III+IV (107-47,8%) x I+II (103-45,3%) e III+IV (124-54,7%), com mudança significativa na frequência do tipo histológico EN: 86 (38,4%) x 157 (69,2%) ($p < 0,05$). Todos os pacientes do período 2 iniciaram trata-

mento, apresentaram maior taxa de RC (49,2% x 65,8%), menor frequência de abandono ao tratamento (11,6 x 2,6%) e menor taxa de recidivas (24,5 x 15,5%). Do período 1, 20% dos pacientes foram a óbito, a maioria pela atividade do LH (exceto dois por segunda neoplasia e um por AVC). Do período 2, 14,6% dos pacientes foram a óbito, um por calazar, um por causa externa, um por segunda neoplasia, um por tuberculose e os demais por atividade do LH. Dos pacientes que apresentaram recidiva no período 1, apenas um fez TMO e foi a óbito. No período 2, 15 pacientes se submeteram a TMO, com 11 em RC (todos transplantados em Fortaleza), três óbitos e uma recidiva. A perda de seguimento dos pacientes do período 1 foi acentuada (46,6%), 18 em RC e os demais em atividade da doença. No período 2, foram perdidos 5,7%, todos com doença em atividade. **Conclusão:** As diferenças significativas entre os dois períodos foram quanto à frequência do subtipo EN, ao menor abandono do tratamento, à menor perda no seguimento, esses possivelmente por melhor tolerância ao ABVD e melhor resposta ao TMO autólogo.

372. CARACTERIZAÇÃO DE PACIENTES PORTADORES DE LINFOMA DE HODGKIN

Ferraz RA, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma de Hodgkin (LH) é uma doença neoplásica de origem linfóide caracterizada pelo achado de células de Reed-Sternberg e tem incidência de 2,3 a 3,1 casos por 100.000 homens e 1,6 a 2,3 casos por 100.000 mulheres por ano. Os pacientes podem se apresentar assintomáticos, com a exceção de linfonodomegalia, principalmente em região cervical. Sintomas B podem estar presentes e incluem febre, sudorese noturna e perda de mais de 10% de peso. O LH é classificado de acordo com a Organização Mundial de Saúde em LH com predominância linfocítica (PL) e LH clássico (LHC), que por sua vez é subdividido nos tipos esclerose nodular (EN), celularidade mista (CM), rico em linfócitos (RL) e depleção linfocítica (DL). O estadiamento do LH é feito de acordo com a classificação de Ann Arbor e tratamento padrão para a doença é feito com o esquema de adriamicina, bleomicina, vinblastina e dacarbazina (ABVD). A sobrevida geral em cinco anos é de cerca de 85%. **Objetivo, material e métodos:** Caracterizar, por meio de análise retrospectiva de prontuários, os 18 pacientes portadores de LH com diagnóstico entre agosto/2008 e agosto/2013 em acompanhamento no ambulatório de Hematologia do Conjunto Hospitalar de Sorocaba. Houve predominância do sexo masculino, com 61,1% dos pacientes e pico de diagnóstico entre 15 e 40 anos (66,6%). **Resultados:** Sintomas B foram referidos por 55,5% dos pacientes e prurido por 22,2%. As cadeias mais afetadas por linfonodomegalia foram cervical (72,2%) e supraclavicular (22,2%). Um paciente (5,55%) tinha LH PL, enquanto os outros 17 eram portadores da forma clássica (76,5% EN e 23,5% CM). De acordo com o estadiamento de Ann Arbor, os estágios com o maior número de pacientes foram os IIA (33%) e IIIB (27%). Todos os pacientes nos estágios III e IV relatavam sintomas B. Todos os pacientes (100%) foram tratados com ABVD e fizeram de quatro a oito ciclos. Quatro pacientes (22,2%) tiveram recidiva da doença e todos esses apresentavam sintomas B ao diagnóstico e três (75%) estavam em acompanhamento por mais de três anos. Um deles fez transplante de medula óssea e outro ainda não tinha iniciado o tratamento no momento da coleta dos dados. Um paciente, presidiário, em tratamento irregular da doença, foi tratado com quatro ciclos do protocolo MIME (metil-gag, ifosfamida, metotrexate e etoposídeo). O quarto paciente, após a ausência de resposta com o ABVD, seguiu o protocolo DHAP (dexametasona, cisplatina e citarabina) e evoluiu com insuficiência renal por ação da cisplatina. Sua recidiva apresentou-se com infiltração de vértebra T3 e, em decorrência da indisponibilidade do serviço de radioterapia no momento, foi tratado com o protocolo GIV (gencitabina, ifosfamida e vinorelbina). Fez ainda transplante de medula óssea, mas faleceu 15 meses após seu diagnóstico em decorrência de pancitopenia grave e choque hipovolêmico refratário (único óbito no período). Em nosso trabalho não foi possível avaliar a sobrevida em cinco anos, visto que não reunimos dados de pacientes com mais de cinco anos de diagnóstico. A maioria dos dados referentes ao LH, assim como acontece com praticamente todas as doenças, provém de países desenvolvidos, principalmente dos EUA e da Europa. **Conclusão:** Os dados observados neste trabalho, em sua maioria concordantes com a ampla literatura acerca da doença, nos permite observar que a realidade brasileira não é diferente nesses quesitos.

373. QUADRO DE CONDICIONAMENTO AVERSIVO A SITUAÇÕES RELACIONADAS À QUIMIOTERAPIA EM PACIENTE COM DOENÇA DE HODGKIN

Cliquet MB, Franco RL, Vecina AFC, Filho IF, Mandola MB, Ferri RNS, Fujiki RHM, Pugliesi TB, Santos EAD, Cliquet M

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A doença de Hodgkin é uma doença linfoproliferativa que se inicia em sítios linfóides. Com o passar do tempo suas células malignas se disseminam para tecidos adjacentes e, se não tratadas, podem atingir outras órgãos linfóides. O tratamento da DH, com doença limitada, era tradicionalmente efetuado com radioterapia (RT). No entanto, a grande ocorrência de recaídas e de morbidade tardia tornou essa prática mais limitada, com exceção feita para o tratamento da doença em estágio clínico I, ou como consolidação em campos envolvidos ou estendido. Assim, atualmente recomenda-se o uso de terapêutica combinada com ciclos de quimioterapia (QT), para a qual um dos principais esquemas é o ABVD (doxorubicina, bleomicina, vinblastina, dacarbazina), associado a RT da área envolvida. Esse esquema de quimioterapia tem como um de seus efeitos colaterais a ocorrência de náuseas e vômitos, o que, em geral, é evitado com antieméticos. No entanto, a ocorrência de náuseas e vômitos é uma situação clínica que é variável para cada paciente e envolve até aspectos psicológicos. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente de 43 anos, portador de doença de Hodgkin do tipo celularidade mista, estágio IIB, tratado com ABVD por quatro ciclos mais radioterapia de campo envolvido. **Relato de caso:** Logo após o primeiro ciclo, o paciente começou a apresentar quadros de hiperemese e aversão a situações associadas à quimioterapia, isto é, ao local, aos cheiros e às pessoas que atuavam no setor. Ao ouvir falar sobre quimioterapia, apresentava náuseas e por vezes chegava a vomitar. O mesmo ocorria ao ouvir ou pronunciar as palavras café ou *cappuccino*. Essa aversão ocorreu porque o paciente presenciara os funcionários do setor fazendo café e/ou *cappuccino* durante suas sessões de quimioterapia. Pela grande dificuldade que tal situação criou na vida diária, o paciente foi encaminhado ao Serviço de Psiquiatria. Feito o diagnóstico de um transtorno ansioso, com a presença de um condicionamento aversivo (pavloviano). O paciente foi tratado com ansiolíticos e dessensibilização e enfrentou as situações aversivas gradativamente. **Conclusão:** Consideramos importante que o ambiente no qual é feita a quimioterapia seja o mais agradável possível para que se evitem situações que possam ocasionar esse tipo de aversão. O suporte psicológico e/ou psiquiátrico pode ajudar o paciente a superar esses transtornos.

374. AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DOS PACIENTES COM DOENÇA DE HODGKIN ACOMPANHADOS NO A.C. CAMARGO CANCER CENTER

Comandaroba MPG, Vieira GMM, Moura FL, Filho JS, Nascimento MM, Pereira AAR, Lima VCC, Rocha TMBS

A. C. Camargo Cancer Center, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma de Hodgkin corresponde a 10% de todos os linfomas e sua incidência vem aumentando anualmente, principalmente em países desenvolvidos. Entre os grupos de baixo poder socioeconômico os subtipos dos linfomas são de pior prognóstico e mais frequentemente associados ao Epstein-Barr vírus (EBV). Esses pacientes têm um aumento na taxa de eventos fatais e uma menor taxa de resposta completa. No entanto, os estudos para quantificação desses dados são de muitas dificuldades, pois há inúmeras interações entre os fatores socioeconômicos, raciais e idade. **Objetivo:** Avaliação epidemiológica dos pacientes portadores de linfoma de Hodgkin no Hospital AC Camargo acompanhados nos setores público (SP) e privado (SC). **Material e métodos:** Foram coletados no banco de dados do serviço de onco-hematologia do Hospital AC Camargo dados de 164 pacientes com diagnóstico de linfoma de Hodgkin de janeiro/2007 a dezembro/2013. Analisados os dados epidemiológicos e comparados entre SP e SC. **Resultados:** Dos 164 pacientes analisados, 22 eram do serviço público (13%) e o restante do setor conveniado (SC) do hospital. No setor público (SP), 44,7% dos pacientes eram do sexo masculino, enquanto no setor conveniado foi de 59,1%. No SC, 57,4% dos pacientes tinham estágio I-II e no SP esse índice foi de 77,3%. Dos pacientes SC 31% tinham massa *bulky* ao diagnóstico e no SP 45,5%. Medula óssea estava acometida pela doença em 9,1% dos pacientes do SP e em 7,8% no SC. No SP, 61,9% dos pacientes fizeram radioterapia e no SC 53,7%. Mais de 95% dos pacientes no SP e SC usaram o esquema ABVD. Os dados sobre resposta ao tratamento e óbito não foram

levantados. **Conclusão:** Não foi encontrada, nesta amostra, qualquer diferença nos dados epidemiológicos nos pacientes acompanhados em SP e SC no hospital A.C. Camargo Cancer Center. Dados de resposta e sobrevida serão analisados em breve para caracterizar se a condição social impacta na resposta, toxicidade e sobrevida ao tratamento.

375. SUCESSO NA DESENSIBILIZAÇÃO DO BRENTUXIMAB VEDOTIN APÓS REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE

Vargas R^a, Breunig RC^a, Machado YT^b, Andreoli D^b, Brum C^a, Fogliatto L^{a,b}, Capra MEZ^a, Goettsms M^a, Oliveira PV^a

^a Hospital Santa Rita, Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre, RS, Brasil

^b Fundação Faculdade Federal de Ciências da Saúde (UFCSA), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O tratamento de pacientes jovens com linfoma de Hodgkin (LH) recaído ou refratário inclui quimioterapia em altas doses e transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) e mais recentemente novas drogas, como o brentuximab vedotin (BV). **Relato de caso:** Paciente feminina, 25 anos, portadora de DH clássico em 2010, EC IIA, IPS 2. Tratada com seis ciclos de ABVD (novembro 2010-abril 2011). Em maio de 2011 progrediu, foi resgatada com três ciclos de ICE com remissão completa, seguido de TCTH em dezembro de 2011. Após seis meses do TCTH, recidivou em tórax e abdômen. Apresentou também sintomas B e prurido. Foi iniciada quimioterapia com gencitabina e dexametasona. Com três ciclos, atingiu remissão parcial e controle dos sintomas B. No entanto, a toxicidade hematológica (plaquetopenia graus 3 e 4) permitiu manter somente doses subterapêuticas de gencitabina. Em novembro de 2012 obteve acesso ao BV, fez o primeiro ciclo sem intercorrências e com importante regressão da doença. Após 21 dias, durante o segundo ciclo, apresentou reação de hipersensibilidade que a impediu de receber a dose completa. Foi manejada com hidrocortisona, difenidramina, reposição volumétrica endovenosa e epinefrina e ranitidina com rápida melhora. Em novembro de 2013, O'Connell et al. publicaram o relato de paciente com reação prévia ao BV que conseguiu infundir posteriormente ao seguir um protocolo de dessensibilização da droga. Considerando ser o BV a melhor estratégia terapêutica disponível para esta paciente, refratária a quimioterapia, sem doador para TCTH e sem perfil para radioterapia, pela extensão da doença, optou-se por fazer o novo ciclo de acordo com o protocolo recomendado pelos autores supracitados. O protocolo prevê o uso de paracetamol, dexametasona e difenidramina no período de pré-infusão. A paciente recebeu o terceiro ciclo de tratamento de acordo com uma estratégia que prevê três frascos com diferentes diluições do BV: 0,005 mg/mL na bolsa 1, 0,05 mg/mL na bolsa 2 e 0,545 mg/mL na bolsa 3. De acordo com esse esquema, a paciente recebeu 180 mg de BV. A dose foi duplicada a cada passo com uma taxa de infusão máxima de 80 ml/h. A infusão foi feita com monitoração hemodinâmica e com a presença de médico intensivista e hematologista. Após a infusão da primeira bolsa, a paciente referiu prurido discreto, recebeu mais 100 mg de hidrocortisona e foi retardada a infusão da bolsa 2. Com essas medidas, foi possível infundir o restante da medicação sem outras intercorrências. **Conclusão:** As reações de hipersensibilidade com a infusão de BV podem impedir esse tratamento. No entanto, existem casos em que essa é a melhor estratégia terapêutica com aumento de sobrevida livre de progressão e global. O uso de protocolo de dessensibilização, sob rigorosa monitoração do paciente e na presença da equipe médica qualificada, pode ser uma opção nos pacientes que apresentem hipersensibilidade ao BV.

LINFOMA DE NÃO HODGKIN

376. SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ EM PACIENTE COM LINFOMA NÃO HODGKIN – RELATO DE CASO

Remor TO^a, Cardoso CC^b, Santos IM^b, Delgado TSF^b, Dametto GC^b, Santos-Silva MC^b, Del-Moral JAG^b, Rudolf-Oliveira RCM^b

^a Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Tubarão, SC, Brasil

^b Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Introdução: A síndrome de Guillain-Barré (SGB) é uma polineuropatia desmielinizante inflamatória rapidamente progressiva caracterizada por

neuropatia motora ascendente e arreflexia. A patogenia da SGB permanece indeterminada. No entanto, existem fortes evidências de que o processo seja mediado pelo sistema imune. A SGB é frequentemente relatada em pacientes com linfoma de Hodgkin e raramente observada em pacientes com linfoma não Hodgkin (LNH). Nesses pacientes a SGB pode estar relacionada à disfunção imunológica causada pela própria doença ou pela terapia. **Objetivo:** Relatar um caso de SGB em paciente com LNH tipo Burkitt. **Relato do caso:** Paciente masculino, 23 anos, admitido no HU-UFSC lúcido, comunicativo, orientado, hipocorado, hidratado e euneico. Apresentava dor no quadril havia 30 dias, com piora da intensidade havia 10 dias e emagrecimento de 5 kg em um mês. A ressonância nuclear magnética de quadril apresentou alterações difusas da medula óssea (MO) em toda a extensão da bacia, incluindo a coluna lombar, o sacro e os fêmures. Por causa dessas alterações, o paciente fez um mielograma compatível com infiltração por linfoma não Hodgkin (LNH). O resultado da imunofenotipagem de MO demonstrou 9% de células patológicas de linhagem linfóide B (CD19+) maduras (CD20+) e monoclonais (Kappa + fraco) com fenótipo compatível com linfoma de Burkitt. Iniciou-se a quimioterapia endovenosa (HIPER-CVAD) associada à mesna. Ao longo da internação apresentou dormência em membros inferiores, dor muscular difusa pelo corpo, alterações visuais e confusão mental. Por causa da perda de força ascendente solicitou-se uma eletroneuromiografia, cujo resultado foi indicativo de severa polineuropatia periférica com padrão desmielinizante, característico de SGB paraneoplásica. Iniciou-se a terapia com imunoglobulinas. No entanto, a resposta a esse tratamento foi insatisfatória e substituiu-se por plasmáfereze. Um novo mielograma e imunofenotipagem foram feitos e não foram observadas células semelhantes às encontradas no momento do diagnóstico, o que demonstrou remissão morfológica e imunofenotípica. Apesar da remissão do LNH, o quadro neurológico se agravou e o paciente foi para a UTI com dificuldade respiratória e desorientado. Durante os três meses seguintes, apresentou piora na cognição, por vezes não respondia a estímulos, e começou a apresentar expressões faciais caracterizadas por espasmos ou mioclonias, sugestivos de crise convulsiva. Gradativamente houve agravamento do quadro e no 150º dia de internação foi a óbito por parada cardíaca. **Discussão:** Pacientes com linfomas normalmente desenvolvem sintomas neurológicos cujas principais causas são atribuídas à infiltração do sistema nervoso central pelas células neoplásicas que causam danos nos axônios ou à toxicidade de fármacos que podem causar disfunção cerebral ou mielopatias. Excluindo-se essas causas, o diagnóstico diferencial com a SGB deve ser considerado e baseado em achados clínicos e laboratoriais, uma vez que a SGB pode ser fatal. **Conclusão:** Apesar de ser raro o desenvolvimento da SGB em pacientes com LNH, o paciente em questão foi rapidamente diagnosticado. No entanto, foi a óbito por ser não responsivo a terapia.

377. NODAL PERIPHERAL T-CELL LYMPHOMA – A CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS AT THE MEDICINE SCHOOL OF THE SÃO PAULO UNIVERSITY

Lage LAPC, Goncalves MC, Foltran RK, Costa RO, Levy D, Zerbini MCN, Pereira J

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Background: Peripheral T-cell lymphomas (PTCL) are a biologically and clinically heterogeneous group of rare diseases arising from mature or activated post-thymic T lymphocytes. The nodal group involves the peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified (PTCL-NOS), angioimmunoblastic lymphoma (AITL), anaplastic large cell lymphoma ALK positive (ALCL-ALK+), and anaplastic large cell lymphoma ALK negative (ALCL-ALK-). The literature on PTCL is scarce, especially in Brazil, where data regarding epidemiology, clinical features, and outcomes are usually rarely available. Thus, to better understand PTCL, the authors performed a retrospective study with patients treated in a reference service for cancer treatment in Brazil. **Methods:** 87 nodal PTCL patients treated with anthracycline-based regimen (CHOP or CHOEP) from January of 2000 to June of 2014 were evaluated retrospectively at the Medicine School of Universidade de São Paulo, Brazil. All patients younger than 60 years were consolidated with autologous hematopoietic stem cell transplantation (ASCT) in first complete response (CR) or in partial response (PR) except those with ALCL-ALK+ diagnosis. Refractory and relapsed patients were salvaged with three to four cycles of IVAC regimen and submitted to ASCT. Patients were evaluated for overall response (OR) including CR and PR, overall survival (OS) and progression-free survival

(PFS). **Results:** Of the 87 patients, 34 (39.08%) cases were classified as ALCL-ALK-, 27 (31.03%) as PTCL-NOS, 16 (18.39%) as ALCL-ALK+, and six (6.89%) as AITL; in four (4.1%), cases the diagnosis could not be performed and an expansion of the immunohistochemical is ongoing. Thirty-six (45.38%) cases were female, 59 (67.81%) patients were lower than 60 years; 76 (87.35%) patients presented in advanced stage at diagnosis but 73 (83.90%) patients presented an ECOG < 2 and 14 (16.10%) \geq 2. Eighteen (20.70%) patients were of low-risk, 26 (29.88%) of low-intermediate risk, and 43 (49.42%) of high-intermediate and high-risk of international prognostic index (IPI). The CR and PR was obtained for 44 (50.57%) and 8 (9.19%), respectively with 59.76% OR. Thirty (34.48%) patients were primary refractory and five remain under treatment. In a median of follow of 30 months, ALCL-ALK+ showed higher OS (median 140.98 months) than ALCL-ALK- (44.20 months), PTCL-NOS (median 20.62 months) and AITL (median 7.24 months; $p = 0.41$). The median of PFS was 3.84 months for AITL, 23.44 months for ALCL-ALK+, 40.03 months for PTCL-NOS, and was not yet reached for ALCL-ALK- ($p = 0.0006$). **Conclusion:** In this study, it was demonstrated that, in accordance with the literature, ALCL-ALK+ presented a better OS in comparison to other nodal T-cell lymphomas, such as AITL, PTCL-NOS, and ALCL-ALK-. Surprisingly, the PFS of ALCL-ALK+ was statistically significantly lower than that of ALCL-ALK-. It is thought that this result might be explained because, in this service, prior to this study, ASCT in first CR was not indicated for ALCL-ALK+, but for all ALCL-ALK-. This hypothesis may be reinforced as the most of the cases presented high-intermediate and high-risk of IPI and that could equalize the favorable effect of ALK expression. In addition, the protocol was changed; ASCT is now indicated as first line of treatment for patients with ALCL-ALK+ with intermediate-high and high-risk of IPI.

378. 18 F-FDG PET INTERIM AND DETERMINATION OF CELLULAR ORIGIN BY IMMUNOHISTOCHEMISTRY IDENTIFY A GROUP OF VERY GOOD PROGNOSIS IN PATIENTS WITH DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA IN THE RITUXIMAB ERA

Costa RO, Neto AEH, Siqueira S, Lage LAPC, Foltran RK, Paula H, Pereira J

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Background: Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common subtype of non-Hodgkin lymphoma (NHL) in this institution (49.5%). The World Health Organization (WHO) classification recognizes several subtypes of DLBCL based on morphology, immunohistochemistry (IHC), and molecular analysis. Half of patients remain incurable after standard treatment with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) and anthracycline-based chemotherapy. Therefore, it is necessary to identify high-risk patients in order to try to improve their prognosis. In the pre-rituximab era, the best way to identify this high-risk group was based on the International Prognostic Index (IPI); more recently, molecular aspects that characterize the gene signature of the malignant cell are used. Patients with gene expression profile similar to normal cells from germinal center (GC) showed better prognosis than those with B-cells-activated signature. Correspondent algorithms based in IHC were also proposed; Hans' algorithm is the most commonly used. However, these prognostic indicators have been questioned in the rituximab era. Conversely, the positron emission tomography with 18 F-fluodeoxyglucose (PET 18 F-FDG) has been recommended at diagnosis and at the end of treatment to improve accuracy of staging and response evaluation. Even though some studies have shown improvement on survival in patients with negative PET after two or three cycles of R-CHOP, its impact as a prognostic factor in DLBCL remains controversial. **Objective:** This study aimed to investigate the association between interim PET (iPET) and cellular origin of DLBCL using Hans' algorithm as prognosis in patients treated with R-CHOP. **Methods:** This study prospectively analyzed 146 DLBCL patients treated with R-CHOP 21. The 18 F-FDG PET was performed after two cycles of R-CHOP and at the end of treatment in 105 patients. DLBCL was classified as GC and NGC subtype by IHC using Hans' algorithm. **Results:** The median age of GC-DLBCL (52.7 years) was lower than NGC-DLBCL (59.4 years; $p = 0.021$); the same was observed in patients with negative iPET (52.7 years) versus positive iPET (59.4 years; $p = 0.031$). Bulky disease was more common in GC-DLBCL ($p = 0.008$). The overall survival (OS) at 30 months for GC-DLBCL was 100% for patients with negative iPET and 70.4% for patients with positive iPET ($p = 0.063$). Progression-free survival (PFS) at 30 months was 100% for GC-DLBCL and

iPET negative and 64.3% for GC-DLBCL and iPET positive ($p = 0.02$). **Conclusion:** iPET and cell origin determination by Hans' immunohistochemical algorithm allowed for the identification of a subgroup of very good prognosis showing GC origin and negative iPET. However, the present results should be confirmed in others studies.

379. CLINICAL PROGNOSTIC MODELS IN DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA PATIENTS ARE STILL ESSENTIAL IN THE RITUXIMAB ERA

Costa RO, Neto AEH, Siqueira S, Lage LAPC, Foltran RK, Paula H, Pereira J

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Introduction: To evaluate a new enhanced IPI proposed by the National Comprehensive Cancer Network (NCCN-IPI) in DLBCL patients, the international prognostic index (IPI), R-IPI, and NCCN-IPI were compared in DLBCL patients treated with rituximab, cyclophosphamide, hydroxydaunorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP). **Methods:** From June of 2008 to November of 2011, 146 DLBCL patients treated with R-CHOP-21 referred for cancer treatment were retrospectively evaluated in a single university institution in Brazil. Patient's clinical data were assessed to calculate the IPI, R-IPI, and NCCN-IPI. **Results:** Patient's median age was 58.9 years (range 16–86), and 85 (57.8%) were female. According to IPI, risk categories were low ($n = 41$, 28.1%), low-intermediate ($n = 43$, 29.5%), high-intermediate ($n = 37$, 25.3%), and high ($n = 25$, 17.1%). Using R-IPI, risk categories were very good ($n = 19$, 13%), good ($n = 65$, 44.5%), and poor ($n = 62$, 42.5%). According to NCCN-IPI, risk categories were low ($n = 12$, 8.2%), low-intermediate ($n = 52$, 35.6%), high-intermediate ($n = 62$, 42.5%), and high ($n = 20$, 13.7%). At 30 months (median follow up 17.7 months; range 0.6–58.2 months) the overall survival (OS) was 75.5%. The progression-free survival (PFS) at a median follow-up of 16.3 months (range 0.6–52.4) was 68.3% for all patients. Using IPI, the OS at 30 months did not differ between low and low-intermediate risk patients (96.8% vs. 82.2%; $p = 0.136$); however, it was higher than the OS of high-intermediate risk ($n = 37$; 96.8% vs. 74.1%; $p = 0.11$) and high-risk patients ($n = 25$; 96.8% vs. 41%; $p < 0.001$). NCCN-IPI demonstrated significant differences in OS ($p < 0.001$) and PFS ($p < 0.001$) among low-intermediate, high-intermediate, and high risk groups, with the high-risk group exhibiting worse OS (32.1% in 30 months). According to IPI, the OS in high-risk patients was 41%. **Conclusion:** In the present study, NCCN-IPI, but not the IPI or R-IPI, was able to discriminate a high-risk group of DLBCL patients treated with R-CHOP with worse OS.

380. CD4+ LYMPHOCYTES IN ASYMPTOMATIC HTLV-1 CARRIERS PRESENT CELL CYCLE ARREST IN G0/G1-PHASE

Ferreira MCMR, Foltran RK, Lage LAPC, Levy D, Pereira J

Laboratório de Imunopatologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) is an aggressive and incurable disease caused by human T-lymphotropic virus 1 (HTLV-1) that infects CD4+ and CD8+ lymphocytes, but most commonly the malignant cells present a CD4+ phenotype. However, clonal expansion and cell cycle abnormalities have been demonstrated in CD4+ and in CD8+ lymphocytes of HTLV-1 carriers. **Objectives:** This study compared DNA content and G_0/G_1 , G_2/M and "S"-phases of CD4+ and CD8+ lymphocytes among asymptomatic HTLV-1 carriers, ATLL patients, and healthy subjects. **Methods:** This study analyzed 38 HTLV-1 carriers, 20 ATLL patients, and 35 healthy subjects paired by sex and age at the Hematology Department of the Faculty of Medicine, University of São Paulo. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated on Ficoll-Paque® and lymphocytes subtypes were obtained by positive selection in a magnetic column. Cell-cycle distribution and DNA index (DI) was assessed by flow cytometry after propidium iodide staining. **Results:** In ATLL, the median age was 53.5 years (24 to 72) and 50% were female; in HTLV-1 carriers the median was 55.5 years (33 to 80) with 63.2% females; and in control group the median was 50 years (24 to 80) with 54.3% females. In the CD4+ lymphocyte the percentage of cells in G_0/G_1 (98.32%) in HTLV-1 carriers was higher than in the control group (97.14%) ($p = 0.041$) and in ATLL (97.25%) ($p = 0.023$). S-phase was not statistically different between asymptomatic carriers (0.34%) and the control group (0.63%) ($p = 0.073$), but was higher in ATLL (1.80%) than in

asymptomatic carriers (0.34%) ($p < 0.001$) and in control group (0.63%) ($p = 0.02$). G_2/M -phase was not significantly different among all groups ($p = 0.960$). The CD4+ lymphocytes were aneuploid in 39.5% (18.4% $DI > 1.05$ and 21.5% < 0.95) of asymptomatic carriers and in 26.7% (20% > 1.05 and 6.7% < 0.95) of ATLL patients ($p = 0.557$). All control groups were diploid. In CD8+, there was no significant difference in whole groups for G_0/G_1 -phase ($p = 0.138$) and G_2/M -phase ($p = 0.374$). ATLL presented higher S-phase (median 1.54%) than asymptomatic carriers (median 0.45%) ($p = 0.003$) and the control group. S-phase in asymptomatic carriers was not significantly different in comparison to the control group ($p = 0.712$). CD8+ were aneuploid in 23.7% (5.3% $DI > 1.05$ and 18.4% < 0.95) of asymptomatic carriers and in 21% (10.5% > 1.05 and 10.5% < 0.95) of ATLL ($p = 0.603$). In ATLL, the median of DI was 1.01 (1.0; 1.05) in CD4+, higher than the CD8+ median of 0.99 (0.98; 1.0) ($p = 0.007$). Aneuploidy was seen in 47.7% of ATLL, 26.7% (20% $DI > 1.05$ and 6.7% < 0.95) in CD4+ and 21.0% in CD8+ (10.5% > 1.05 and 10.5% < 0.95) ($p = 0.625$). **Conclusion:** It was demonstrated for the first time *in vivo* that asymptomatic HTLV-1 carriers display cell cycle arrest in G_0/G_1 -phase in CD4+ lymphocytes and a high rate of aneuploidy in both CD4+ and CD8+. ATLL showed a high rate of hyperdiploidy in CD4+ and hypodiploidy in CD8+, and a high rate of S-phase in CD4+. Genetic instability and proliferative disturbances are a hallmark not only in ATLL but also in HTLV-1 carriers, and in both CD4+ and CD8+ lymphocytes.

381. A MICRORNA-MEDIATED REGULATORY LOOP MODULATES NOTCH AND MYC ONCOGENIC SIGNALS IN B AND T CELL MALIGNANCIES

Ortega MM, Bhatnagar H, Lin A, Wang L, Aguiar RCT

Division of Hematology and Medical Oncology, Department of Medicine, Cancer Therapy and Research Center, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, United States

MYC and NOTCH contribute to the pathogenesis of lymphoid malignancies. NOTCH directly induces MYC, connecting their oncogenic programs. However, it is unclear whether MYC also positively regulates NOTCH, a potentially beneficial mechanism to establish a closed pro-growth circuitry in cancer cells. Growing evidence suggests that microRNAs (miRNAs) facilitate the cross-talk between distinct pathways, suggesting that these non-coding genes may bridge the oncogenic MYC and NOTCH nodes. To examine this concept, a dataset of miRNAs that previously showed aberrant copy number/expression in diffuse large B cell lymphoma (DLBCL), and that were independently found to be regulated by MYC, was mined. This approach identified miRNA-30a (miR-30a) as a candidate for the putative MYC-dependent regulation of NOTCH1 and NOTCH2 (NOTCH1/2). To validate this observation, reporter constructs were generated containing the miR-30a binding sites of NOTCH1/2, which confirmed a direct binding between this miR-30a, NOTCH1, and NOTCH2. Next, multiple DLBCL and T-acute lymphoid leukemia (T-ALL) cell lines with stable expression of miR-30a were created, and a marked suppression of NOTCH1/2 expression was found. In loss-of-function models, miR-30a was depleted using a stably-expressed sponge construct, and detected a significant de-repression of NOTCH1/2 expression. To confirm that modulating MYC altered miR-30a levels, mature B cells were isolated from MYC transgenic mice (E μ -myc) and wild-type littermates. Using a stem-loop real-time RT-PCR, it was shown that the expression of miR-30a was significantly lower in B cells from the E μ -myc mice, in association with higher levels of NOTCH. To isolate the role of NOTCH in this circuitry, this study first used a genetic model, and found that stable expression of constitutively active NOTCH1/2 in DLBCL resulted in up-regulation of MYC expression, which resulted in downregulation of miR-30a. These assays were complemented with a pharmacological model. Herein, T-ALL cell lines were exposed to a gamma secretase inhibitor, resulting in NOTCH1 suppression, MYC downregulation, and subsequent miR-30a de-repression. To determine if this newly found MYC-miR-30a-NOTCH regulatory loop impinged on the fitness of B and T cell malignancies, the growth pattern of the genetic models of gain or loss of miR-30a were examined. This study found a significantly reduced cell proliferation in cells stably expressing miR-30a, while its functional inactivation enhanced the growth rate. These data suggested a tumor-suppressive role for miR-30a. Finally, to determine the relevance of this circuitry beyond genetically engineered cell models, the authors examined a small cohort of primary human tumors and found a significant correlation between the expression of miR-30a and NOTCH2

in DLBCL, and between NOTCH1 mutational status and miR-30a expression in T-ALLs. Thus, this study indicates that the relationship between NOTCH and MYC is bidirectional, and that in addition to the earlier evidence that NOTCH induces MYC, MYC, through suppression of miR-30a, also impinges on NOTCH expression. These observations may prove relevant to the pathogenesis of multiple neoplasms that rely on MYC and NOTCH signals for initiation and maintenance. Future examination of large and well-characterized cohorts of patients with late follow-up should help define if this interplay has important clinical implications.

382. LINFOMA DE EFUSÃO PRIMÁRIO – RELATO DE CASO

Silva PCL, Silva SS, Torga JP, Almeida JM, Rocha SFG, Chalup MMBS, Neves MCA, Campos CM, Souza SM

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Objetivo: Relatar um caso raro de linfoma de efusão primário em um paciente HIV positivo. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 36 anos, natural de Simão Dias (SE), HIV positivo e portador de sarcoma de Kaposi. Em maio de 2013 evoluiu com febre diária, perda de peso e presença de linfonodomegalias em região cervical, axilares e abdominais. Submetido a biópsia e aventada a hipótese de linfoma não Hodgkin que não foi confirmada pela imunofenotipagem (CD20 e CD3 negativos). Em julho e agosto de 2013 novas biópsias que não confirmaram linfoma não Hodgkin. Iniciou com quadro de dispneia, tosse seca e dor ventilatório-dependente e foi encaminhado para internação. Após exames de imagem foi verificada a presença de derrame pleural bilateral. Submetido a toracocentese, com amostra do líquido pleural enviada para análise. A imunofenotipagem do líquido confirmou a hipótese de linfoma de efusão primário. Iniciado esquema quimioterápico GHOP (ciclofosfamida + daunorrubicina + vincristina + prednisona) ainda na internação. **Discussão:** Linfoma de efusão primário caracteriza-se por um tipo de linfoma não Hodgkin raro associado a HIV positivo, centro pós-germinativo. Manifesta-se como acúmulo de células tumorais em cavidades serosas, como pleura, pericárdio e peritônio. Representa 4% de todos os linfomas não Hodgkin associados ao HIV. Geralmente é associado à presença de sarcoma de Kaposi. Praticamente 100% dos indivíduos apresentam infecção pelo vírus HHV-8 (herpes vírus humano 8). Outro vírus também associado é o Epstein-Barr (90% dos casos). Foram descritos vários casos desse tipo de linfoma relacionado a transplante de órgãos sólidos e pacientes submetidos à quimioterapia sistêmica. O quadro clínico manifesta-se com dispneia, dor torácica ventilatório-dependente e taquipneia nos casos de derrame pleural. O diagnóstico envolve sorologia, morfologia e imunofenotipagem. Em relação ao tratamento quimioterápico, baseia-se na associação das seguintes drogas: ciclofosfamida + daunorrubicina + vincristina + prednisona. Em média, os pacientes apresentam sobrevida de seis meses após o diagnóstico.

383. INVESTIGAÇÃO DE NOVOS ALVOS IMUNOFENOTÍPICOS APLICADOS AO DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS LINFOPROLIFERATIVAS DE CÉLULAS B: UM ESTUDO PILOTO

Rudolf-Oliveira RCM, Cardoso CC, Santos IM, Reis ML, Del-Moral JAG, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Introdução: Os linfomas não Hodgkin (LNH) compreendem um grupo heterogêneo de neoplasias, das quais cerca de 90% são de células B. Atualmente, a classificação proposta pela Organização Mundial de Saúde divide os LNH em mais de 20 subtipos com aspectos clínicos, morfológicos, moleculares e imunofenotípicos distintos. A imunofenotipagem é direcionada à identificação e classificação dos LNH pela observação das alterações nos padrões de expressão normais dos marcadores celulares. Recentemente, o grupo internacional Euroflow publicou um painel com uma combinação de anticorpos monoclonais que contribuem para identificar a maioria dos LNH-B. No entanto, apesar de esse painel apresentar diversos marcadores celulares, alguns diagnósticos diferenciais entre subtipos de LNH-B não podem ser esclarecidos por causa da sobreposição fenotípica. **Objetivo:** Avaliar novos alvos imunofenotípicos publicados na nona edição do Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens (HLDA) aplicados no diagnóstico diferencial dos LNH-B. **Material e métodos:** Para a avaliação dos novos marcadores imunofenotípicos por cito-

metria de fluxo, foram analisadas amostras de aspirado de medula óssea (MO), de sangue periférico (SP) ou aspirados e biópsias de linfonodos de seis pacientes com suspeita clínica de linfoma referenciados ao HU/UFSC. Também foram analisadas três amostras de sangue periférico normais como controle negativo. Foram usados 100 µL de cada amostra biológica para as marcações imunofenotípicas cujo protocolo foi executado de acordo com as informações constantes na bula dos reagentes. Foram testados os anticorpos monoclonais anti-: CD80 APC, CD86 PE, CD210 PE, CD261 PE, CD262 PE, CD264 PE, CD358 PE, por meio de marcação de membrana e intracelular. **Resultados:** Nas três amostras de SP normais nenhum dos marcadores citados apresentou positividade para as células linfoides B (CD45+, CD19+, CD20+). As células B dos pacientes com LNH-B Epstein-Barr+ do idoso (biópsia de linfonodo), leucemia linfocítica crônica (SP e MO), LNH-B da zona do manto (biópsia de linfonodo) e linfoma de células B não especificado (aspirado de linfonodo) também não apresentaram positividade em nenhum dos marcadores testados. Por outro lado, a amostra de MO do paciente com linfoma de Burkitt (LB) apresentou positividade para CD80, CD86, CD210, CD261 e CD262. **Discussão:** De acordo com dados encontrados na literatura, alguns estudos evidenciaram positividade para esses marcadores em células de LB em cultura das linhagens Raji (CD80, CD261 e CD262), Daudi (CD86, CD210, CD261 e CD262), Namalwa (CD80, CD210, CD261 e CD262) e Ramos (CD210, CD261 e CD262). No entanto, até o presente momento poucos estudos foram feitos com células de pacientes para afirmar que esses marcadores sejam específicos para as células de LB. **Conclusão:** Apesar dos resultados obtidos serem promissores, são necessários mais estudos para concluir se os marcadores CD80, CD86, CD210, CD261 e CD262 são específicos para o LB.

384. LINFOMA DE ANEXO OCULAR DA ZONA MARGINAL EXTRANODAL DE TECIDO LINFOIDE ASSOCIADO À MUCOSA COM EXPRESSÃO ABERRANTE DE CD10 – RELATO DE CASO

Santos IM, Cardoso CC, Santos TM, Rudolf-Oliveira RCM, Delgado TSF, Dametto GC, Steffenello-Durigon G, I-Ching L, Orfao A, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Introdução: Os linfomas não Hodgkin (LNH) são neoplasias de células linfoides maduras que podem acometer sítios extranodais, tais como os anexos oculares. Entre todos os casos de LNH em anexos oculares, o subtipo mais frequente (35 a 80% dos casos) é o linfoma da zona marginal extranodal de tecido linfoide associado à mucosa (linfoma MALT). O linfoma MALT pode se desenvolver em quase todos os órgãos após uma inflamação crônica causada por quadros infecciosos, processos autoimunes ou outros estímulos desconhecidos. Recentemente, a presença da *Chlamydia psittaci* tem sido relacionada ao linfoma MALT em anexo ocular e encontrada em até 80% dos casos. Essa neoplasia acomete indivíduos com idade média de 65 anos, apresenta um curso indolente e é constituída por células B pequenas e morfológicamente heterogêneas. Imunofenotipicamente, as células apresentam restrição de cadeia leve, expressam antígenos B como CD19, CD20, CD22 e CD79b e não expressam CD10, CD23 e CD27. A expressão de CD11c e CD43 é variável e a expressão de CD5 pode estar relacionada a um mau prognóstico. O tratamento se baseia no uso de radioterapia isolada, relacionado a altas taxas de recidiva, ou na associação de quimioterápicos e antibióticos. **Objetivo:** Relatar um caso de LNH em anexo ocular, visto que a frequência desse tipo de neoplasia é baixa: 1% a 2% de todos os casos de LNH e 8% dos linfomas extranodais. **Relato de caso:** Paciente do gênero masculino, 45 anos, foi encaminhado ao Serviço de Hematologia por apresentar uma massa palpável indolor de cor vermelho claro na conjuntiva do canto medial do olho direito. Relato diagnóstico de LNH de células B havia dez anos em olho esquerdo, o qual foi tratado com radioterapia. No momento da admissão, foi feita uma biópsia da lesão ocular. O exame anatomopatológico demonstrou a presença de um infiltrado linfocitário atípico, associado à hiperplasia folicular florida, no qual não se podia excluir a presença de um linfoma de baixo grau. A imunofenotipagem desse material demonstrou a presença de 37,6% de células linfoides B maduras, de tamanho discretamente aumentado, com restrição de cadeia leve do tipo IgA e expressão de CD19, CD20 brilhante, CD22 e CD10; e ausência de expressão de CD5, CD23, CD27, CD11c, CD43, IgM, CD38, CD79b, CD103 e Bcl-2. Considerando a ausência de expressão dos marcadores Bcl-2 e CD38 nas células patológicas, foi possível fazer o diagnóstico diferencial entre linfoma MALT com expressão aberrante de CD10 e linfoma folicular. Além disso, detectou-se a presença de *Chlamydia spp.* por PCR em amostra de swab

da lesão ocular e de sangue periférico. O paciente foi tratado com doxiciclina via oral por três semanas e, em seguida, encaminhado à radioterapia. **Conclusão:** A presença de células linfoides B monoclonais com fenótipo aberrante em amostra de biópsia de anexo ocular possibilitou o diagnóstico diferencial entre hiperplasia reacional, linfoma MALT e linfoma folicular. De acordo com o exposto, a compilação das informações dos resultados dos exames anatomopatológico e imunofenotípico, do exame molecular e da avaliação clínica indicou o diagnóstico de linfoma MALT ocular com expressão aberrante de CD10 associado à *Chlamydia spp.*

385. QUIMIOTERAPIA METRONÔMICA EM LINFOMAS REFRATÁRIOS: EXPERIÊNCIA DO INCA

Passos J, Riani L, Bigni R, Gonzaga Y

Serviço de Hematologia, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: Apesar dos avanços no tratamento dos linfomas, muitos pacientes ainda sucumbem a doenças refratárias, mesmo quando tratados de forma agressiva. As opções terapêuticas nesse grupo de pacientes são limitadas. Uma dessas opções, que parece apresentar um bom perfil de toxicidade é a quimioterapia metronômica (QTm), que consiste na administração diária de quimioterápicos com diferentes mecanismos de ação, em baixas doses e por via oral. O efeito antineoplásico parece derivar mais da ação no microambiente tumoral do que da citotoxicidade direta. Um dos esquemas mais usado é o PEP-C: prednisona 20 mg, ciclofosfamida 50 mg, etoposide 50 mg e dacarbazina 50 mg, todos por via oral, diariamente. **Material e métodos:** Foram avaliados retrospectivamente todos os pacientes adultos (> 18 anos) do Serviço de Hematologia do Inca, com neoplasias linfoides refratárias, tratados com esquema PEP-C a partir de 2006. **Resultados:** Foram identificados 16 pacientes, metade do sexo masculino, com idade mediana de 58 anos (19-83). Desses, quatro tinham linfoma de Hodgkin, nove linfomas não Hodgkin de fenótipo B e três linfomas T. Os pacientes receberam uma mediana de quatro linhas de tratamento (2-9) antes de iniciar o esquema PEP-C e todos apresentavam doença em progressão. A avaliação de resposta ficou comprometida porque nem todos fizeram exames de imagem após o início do tratamento. Entretanto, dois dos três pacientes com apresentação leucêmica apresentaram redução da leucometria e das linfonodomegalias periféricas e dois com linfoma de Hodgkin politratados apresentaram benefício clínico. Um deles, com recidiva pós-transplante alogênico e dor óssea opioide-dependente, submetido a seis linhas de tratamento prévias, encontra-se em uso do esquema há 609 dias, sem uso de medicação analgésica e em acompanhamento exclusivamente ambulatorial, sem sinais de progressão. Com uma mediana de seguimento de 94 dias (14-609), 11 pacientes faleceram, 10 por progressão da doença de base e um por AVE hemorrágico (paciente com micose fungoide tumoral, que apresentava resposta clínica à QTm e não estava plaquetopênico no momento do AVE). Apenas dois pacientes (12,5%) precisaram suspender o tratamento por toxicidade. Dos cinco pacientes vivos na data da última avaliação, um perdeu seguimento, um interrompeu o tratamento por conta própria, um por progressão da doença e dois ainda encontram-se em uso do esquema por apresentar resposta clínica, sem toxicidade. **Discussão:** Dados da literatura chegam a apontar taxas de resposta de até 70% em pacientes com linfomas refratários tratados com PEP-C, com perfil de toxicidade bastante aceitável. Não foi possível avaliar precisamente a taxa de resposta na nossa população e o número limitado de pacientes também não permitiu avaliar variáveis (doença de base, idade, número de tratamentos prévios) relacionadas à resposta. Apesar disso, alguns pacientes com doença agressiva e politratada inequivocamente obtiveram benefício clínico do tratamento, sem toxicidade significativa. **Conclusão:** A QTm com esquema PEP-C parece ser uma boa opção paliativa, pouco tóxica e de fácil administração em pacientes com linfomas refratários.

386. LINFOMA PLASMABLÁSTICO EM PACIENTE HIV-POSITIVO ATENDIDO NO HOSPITAL REGIONAL DE ARAGUAINA (TO) – RELATO DE CASO

Martins JTN, Cressoni F, Rodrigues JHS, Sousa MM, Barros GB

Faculdade de Ciências Humanas, Econômicas e da Saúde (FAHESA), Araguaína, TO, Brasil

Introdução: Linfoma plasmablastico (LPB) é um linfoma de células B não Hodgkin de rápida progressão e agressivo, recentemente reconhecido,

que ocorre predominantemente em indivíduos HIV-positivo e mostra uma predileção pela cavidade oral com extensa invasão local. **Relato de caso:** Paciente do gênero masculino, 37 anos, pardo, casado, natural e procedente de Xinguara (PA), procurou oncologista e referiu que havia cerca um ano vinha com aumento progressivo da região jugal esquerda associado a lesão em região zigomática ipsilateral até a base inferior da órbita. Levou biópsia da lesão, que descrevia tecido com infiltrado difuso de células de aspecto linfóide de tamanho médio, com alto índice de mitose e presença de células apoptóticas, sugestivo de linfoma não Hodgkin difuso extranodal. Como estava com sangramento ativo da lesão, foi encaminhado com urgência para o serviço de radioterapia do Hospital Regional de Araguaína (HRA). Na mesma ocasião foi solicitado exame de imuno-histoquímica, cujo resultado mostrou neoplasia hematopoiética de alto grau indicativa de LPB. Foi então referenciado para o serviço de hematologia do HRA. Nessa ocasião encontrava-se internado, em radioterapia. Foi avaliado pela hematologia, que suspendeu a radioterapia e solicitou exames de estadiamento, que mostraram doença localizada, e de sorologia para HIV, que veio positiva. Encaminhado para avaliação pela infectologia e instituída terapêutica antirretroviral. Na sequência foi programada quimioterapia. Optou-se por seis ciclos do esquema CHOP a cada 21 dias. Paciente fez cinco ciclos de quimioterapia sem intercorrências e com melhoria progressiva das lesões, com remissão parcial muito boa. Na data do sexto ciclo, compareceu ao ambulatório de Hematologia e referiu ter apresentado um quadro viral na semana anterior. Foi diagnosticado presuntivamente em sua cidade de origem como dengue. Estava assintomático e sem sangramentos. Como o hemograma apresentava anemia e plaquetopenia moderadas, que não havia apresentado previamente, a quimioterapia foi adiada por 15 dias. Retornou e o hemograma mantinha as alterações. Novamente foi remarcada a consulta para 15 dias e encaminhado ao serviço de infectologia para avaliação. Contudo, antes do retorno, deu entrada no pronto-socorro do HRA com epistaxe maciça e péssimo estado geral. Foi iniciada terapêutica de apoio e foram solicitados exames. No dia seguinte evoluiu com rebaixamento do nível de consciência e hipoglicemia. Foi solicitada tomografia de crânio, mas o paciente evoluiu para óbito antes. **Discussão:** O PBL é mais frequente em homens e raramente acomete crianças. É uma entidade muito rara, descrita pela primeira vez em 1997. A associação com o vírus Epstein-Barr foi de 74% dos casos de PBL publicados. Já o papel do herpes vírus humano tipo 8 é incerto na patogênese da doença. Seu diagnóstico é feito pela imuno-histoquímica com resultado de células neoplásicas que não expressam CD20 e CD45, porém elevado índice de proliferação é frequente. Manifesta-se classicamente como lesão em cavidade oral. PBL associado ao HIV está ligado a um curso clínico agressivo e é a causa mais comum de progressão da doença e morte. As taxas de sobrevivência são pobres com terapias padrão. **Conclusão:** Esse conjunto representa um desafio para hematologistas e oncologistas.

387. LINFOMA ANAPLÁSICO DE GRANDES CÉLULAS T (LAGCT) EM UM PACIENTE HIV+ – RELATO DE CASO CARACTERIZADO POR CITOMETRIA DE FLUXO

Souza KW^a, Campos MM^a, Rezende MA^a, Gomes BE^a, Pires V^a, Souza JM^b, Bouzas LF^a, Abdelhay E^a

^a Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Hospital Federal dos Servidores do Estado, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: O linfoma anaplásico de grandes células T (LAGCT) é uma doença hematológica maligna, um tipo raro de linfoma não Hodgkin (LNH) originado de linfócitos T maduros. O diagnóstico é feito a partir de um quadro morfológico típico e de um imunofenótipo de células T positivo para CD30. O reconhecimento da presença desse antígeno em portadores de malignidades até então não classificadas possibilitou a identificação de um novo tipo de linfoma que corresponde a aproximadamente 2% de todos os LNH e acomete principalmente homens jovens. A doença apresenta-se frequentemente com comportamento agressivo, manifestações sistêmicas, estágio avançado e localização extranodal. Na era das modernas terapias antirretrovirais, a incidência de linfomas ocorrendo em pacientes HIV+ (Vírus da Imunodeficiência Humana) tem sido dramaticamente reduzida. No entanto, há evidências de um aumento do risco de linfomas de células T na população HIV+ quando se compara com a população em geral, embora ainda seja incomum a descrição de LAGCT CD30-em pacientes HIV+. **Objetivo:** Descrever um caso incomum de um paciente HIV+, idoso e do sexo feminino, no qual o diagnóstico de LAGCT

com expressão positiva de CD4 e CD30 foi obtido por meio do estudo imunofenotípico por citometria de fluxo (CF) e que evoluiu rapidamente para a fase terminal. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 70 anos, HIV+ e HTLV-, apresentava tumor de duodeno, admitida no Serviço de Hematologia do Hospital Federal dos Servidores do Estado do Rio de Janeiro com história de ascite e derrame pleural. O líquido pleural foi enviado ao Laboratório de Imunologia do Cemo/Inca para estudo imunofenotípico, com a paciente vindo logo a óbito. **Material e métodos:** A amostra foi incubada com anticorpos específicos, por tempo determinado pelo fabricante. Em seguida, foi submetida à lise total de hemácias. Após centrifugação, a amostra foi lavada e fixada para posterior leitura no citômetro de fluxo FACScan. Foram obtidos aproximadamente 100.000 eventos totais. A análise foi feita no programa Paint-a-Gate. **Resultados:** A análise por citometria de fluxo apresentou cerca de 75% de linfócitos T maduros (na região do CD45 de alta intensidade) com o perfil imunofenotípico positivo para CD4 (fraca intensidade), CD5 (fraca intensidade), CD3 (fraca intensidade), CD2 (fraca intensidade), CD11c (média intensidade), CD25 (alta intensidade), CD30 (expressão heterogênea e de alta intensidade). Houve expressão negativa para CD8, CD7, CD10, CD19, CD20, CD23, FMC7, CD103. **Conclusão:** A identificação e a investigação de outros casos de linfomas T associados ao HIV, inclusive aqueles CD4+ (como encontrado em nosso estudo), são importantes para determinar a relação entre infecções pelo HIV e desenvolvimento de LAGCT. Tal estudo poderá proporcionar, além disso, um melhor entendimento do possível papel das terapias antirretrovirais no resgate das células CD4 em pacientes HIV+. Finalmente, a citometria de fluxo se apresenta como uma ferramenta útil, rápida e eficiente no diagnóstico desses linfomas raros.

388. CARACTERÍSTICAS DE 1.455 PACIENTES COM LINFOMA MATRICULADOS NA ABRALE (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LEUCEMIA E LINFOMA)

Perini GF^a, Hamerschlag N^a, Junior GCG^a, Fedozzi F^b, Vellozo CDS^b, Steagall M^b

^a Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

^b Associação Brasileira de Leucemia e Linfoma (ABRALE), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Com uma população estimada de mais de 200 milhões, o Brasil, além de quinto país do mundo em território, é também o quinto mais populoso. Mas, apesar de avanços recentes na economia, ainda sofre de deficiências estruturais, incluindo a assistência de saúde. Nesse cenário, a Abrale tem desempenhado um papel importante em ajudar os pacientes com neoplasias onco-hematológicas, incluindo conversas pela internet semanais com especialistas, material educativo e orientação jurídica. **Objetivo:** Apresentar os dados coletados por um questionário baseado na internet preenchido pelos pacientes no momento da inscrição na Abrale. **Material e métodos:** No momento da inscrição, os pacientes são convidados a responder um questionário para avaliações demográficas e planejamento de políticas, no qual fornecem detalhes sobre diagnóstico, tempo de sintomas, primeira consulta, data e tipo de tratamento e detalham a cobertura de seguro de saúde. **Resultados:** De 2008 a 2009, 1.455 pacientes responderam ao questionário, 53,4% do sexo feminino e 46,6% do masculino. Os diagnósticos foram: linfoma de Hodgkin (LH) em 36,6%, o linfoma não Hodgkin (NLH) em 61,65% e 2% dos pacientes não tinham essa informação. Para NHL, 57,08% não sabiam o subtipo específico de linfoma. A maioria procurou atendimento médico por causa de nódulos linfáticos aumentados (65,64%) e apenas 15,53% tiveram diagnóstico incidental. O tempo de sintomas à primeira consulta foi > um mês em 67,9% e o tempo para a primeira consulta com especialista após o diagnóstico foi > dois meses em 53,54%. Após o diagnóstico, cerca de metade (51,72%) esperou mais de um mês para começar o tratamento. No geral, o tempo de sintomas com o tratamento foi mais de três meses em 70,59%. A maioria não tinha informações sobre o linfoma (86,05%) antes do diagnóstico. Nessa coorte, 63,51% não tinham seguro de saúde e foram tratados em hospitais públicos pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Apenas uma minoria foi tratada com rituximab (23,64% do total, 38,35% dos com NHL). Acesso ao rituximab foi concedida em 81,11% por assistência médica privada, ações judiciais ou protocolos de pesquisa (1,74%). Apenas 18,60% com indicação de rituximab receberam a medicação pelo sistema de saúde brasileiro. **Conclusão:** Observou-se uma proporção alta de pacientes sem informações básicas da sua doença (por exemplo, o subtipo). Além disso, 86% não tinham informações sobre a doença antes

do diagnóstico. Portanto, uma maior educação do paciente e da população é obrigatória. O tempo entre os sintomas e o tratamento foi > três meses em 70%, o que reflete os atrasos por causa da falta de informação e de possíveis atrasos da assistência à saúde. O rituximab foi usado na minoria (38% com NHL), principalmente por fontes privadas ou ações judiciais.

389. LINFOMA NÃO HODGKIN DE CÉLULAS T EM JOVEM – RELATO DE CASO

Magalhães BL, Moura CL, Silva JBCB

Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: O linfoma não Hodgkin (LNH) de células T é uma doença linfoproliferativa e representa cerca de 15% dos LNH. **Objetivo:** Relatar o caso de paciente jovem acometido por LNH T que evoluiu com leucemização e óbito. **Relato de caso:** Paciente masculino, 16 anos, deu entrada em hospital universitário com queixa de abaulamento cervical anterior. Tomografia computadorizada (TC) evidenciou imagem tumoral no mediastino. Assim, foi indicada e feita biópsia da lesão. Dias depois, retornou com dispneia e aumento do volume cervical e evoluiu para insuficiência respiratória. Necessitou de intubação orotraqueal e ventilação mecânica. Após resultado da biópsia, foi diagnosticado LNH T estágio IV B e foi administrado CHOP. Três dias após a quimioterapia (QT), houve regressão da massa, o que possibilitou extubação, e em sete dias recebeu alta para o ambulatório de Hematologia para prosseguir o tratamento. Após quinto ciclo de CHOP, compareceu ao pronto-socorro com queixa de vômitos, aumento do volume abdominal, confusão mental e diminuição do débito urinário. Foi constatada síndrome de lise tumoral e foram administradas medidas de apoio, inclusive hemodiálise. No hemograma, havia blastos (45%, 37.692/uL), hemoglobina de 13,4 g/dL e plaquetopenia (18.000/uL). Assim, acrescentou-se hipótese de leucemização da doença de base. O paciente foi submetido à QT, protocolo HyperCVAD. Após sete dias, apresentou melhora, mas novos exames de imagem apontavam hepatoesplenomegalia, líquido livre intraperitoneal em grande quantidade e número aumentado de linfonodos retroperitoneais e inguinais. Nos dois dias seguintes teve taquipneia, febre e pancitopenia e como estava febril, foram administrados vancomicina e suporte hemoterápico. Após cinco dias, apresentou pioria do padrão respiratório e evoluiu com parada cardiorrespiratória (PCR), revertida após reanimação. Um dia depois, apresentou-se arresposivo, em nova PCR. Foram feitas novamente manobras de reanimação, sem sucesso. **Discussão:** O LNH T é mais comum acima dos 60 anos e raro em jovens e crianças. O tratamento quimioterápico, segundo a literatura, não tem demonstrado resultados significativos, porém, no caso relatado, houve regressão da massa. Nos casos de LNH T, é muito comum recidivar após um ou dois anos, o que caracteriza uma recidiva precoce no caso apresentado e torna o prognóstico mais obscuro e com pior responsividade.

390. LINFOMA DO MANTO VARIANTE BLÁSTICA – RELATO DE CASO

Landgraf MM, Bressa JAN, Bressa R, Oliveira MFS, Jr ES, Landgraf LAP, Souza KJ, Pereira LP

Hospital Regional Presidente Prudente, Presidente Prudente, SP, Brasil

Introdução: Os linfomas de células do manto (LCM) são neoplasias linfóides usualmente disseminadas ao diagnóstico, que representam aproximadamente 6% dos linfomas não Hodgkin (LNHs), caracterizado geneticamente por translocação t(11, 14)(q13; q32) que leva à expressão de ciclina D1, que não é normalmente expressa em células linfóides. Sua forma histologicamente mais agressiva de LCM é a variante blastoide. Os pacientes são, comumente, do sexo masculino, com média de 60 anos, e apresentam sintomatologia B, linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia e infiltração da medula óssea. Pode haver envolvimento do trato gastrointestinal com múltiplos pólipos linfomatosos. Em 70% dos casos são diagnosticados em estágio IV de Ann Harbor. **Objetivo:** Relatar um caso raro de LCM variante blastoide e mostrar suas características clínicas e imunofenotípicas. **Relato de caso:** A.N., 54 anos, masculino, negro, com história de constipação intestinal havia seis meses e pioria havia duas semanas, acompanhada de distensão abdominal e dispneia aos mínimos esforços, que o tornaram incapacitado para suas atividades habituais. Na admissão hospitalar, relatava astenia, emagrecimento de 5 kg,

sudorese noturna e obstrução nasal. Hipertenso, ex-etilista e ex-tabagista. Encontrava-se em regular estado geral, orientado, hidratado, hipocrorado 2+/4+, icterício +/4+, afebril, taquicárdico, normotenso, dispnéico e sem edemas. Os aparelhos cardiovascular e respiratório não apresentavam alterações. O abdome era globoso, fígado e baço palpáveis a 4 cm do rebordo costal direito e 6 cm do rebordo costal esquerdo, respectivamente. Exames laboratoriais: eritrócitos: 4,18 M/uI, hemoglobina: 10,2 g/dL, hematócrito: 29,4%, leucócitos: 323,03 K/uI, blastos: 10%, segmentados: 4%. linfócitos: 82%, monócitos: 1%, plaquetas: 238 K/uI, desidrogenase láctica: 799 U/L. Radiografia de tórax apresentava derrame pleural bilateral. Imunofenotipagem: presença de células de linhagem B maduras, clonais, que expressam os antígenos CD19, CD20, Cd5, FMC-7, CD79b de moderada intensidade, imunoglobulina de cadeia leve kappa de elevada intensidade e imunoglobulina de cadeia pesada IgD e IgM, perfil tipicamente observado no LCM, que corresponde a 90% da celularidade total. Recebeu quimioterapia com esquema Hyper-CVAD. No segundo dia de tratamento apresentou sintomas de suboclusão intestinal e no terceiro iniciou quadro de insuficiência respiratória com pioria do nível neurológico e dos exames laboratoriais (leucócitos: 532,03 K/uL; blastos: 53%, segmentados: 1%), apresentou vários picos febris, evoluiu a óbito seis dias após o diagnóstico, sem possibilidade de fazer os demais exames complementares. **Discussão:** Este relato retrata um LCM forma blástica, típico, com faixa etária acometida entre 50-60 anos, presença de sintomatologia B e diagnóstico em estágio avançado (Ann Harbor IVB). Em relação ao índice prognóstico, esse paciente pontua risco alto tanto na classificação do IPI (International Prognostic Index) quanto na MIPI (Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index). **Conclusão:** Por causa da rápida progressão dos linfoblastos, mesmo com o diagnóstico feito rapidamente e iniciada quimioterapia, o paciente apresentou sintomas característicos de leucostas e evoluiu com insuficiência respiratória. Não foi possível fazer leucoaférese, apesar de sua eficácia não comprovada, e houve término do estadiamento.

391. LINFOMA NÃO HODGKIN PRIMÁRIO RENAL ASSOCIADO A QUILOTÓRAX – RELATO DE CASO RARO

Oliveira GL, Galassi NM, Souto EX, Rocha LKA, Perobelli LLM

Hospital Brigadeiro, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Os linfomas são a quinta neoplasia sistêmica mais comum. O linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B (LDGCB) é o subtipo mais comum, corresponde a aproximadamente 30% dos casos e compõe um grupo heterogêneo de doenças com grande variação nas características morfológicas, moleculares e citogenéticas. O envolvimento do rim ocorre com frequência como manifestação tardia da doença nodal avançada. Porém, o linfoma primário renal (LPR) é mais raro e representa apenas 0,7% dos linfomas extranodais na América do Norte. É mais comum em homens, na faixa de 60 anos. Suas manifestações mais frequentes incluem insuficiência renal, dor em flancos e detecção de massa renal em exames de imagem. O quilotórax pode estar presente e o linfoma é uma das principais causas desse achado. A apresentação clínica de linfoma com a concomitância de ambos os achados, comprometimento renal e quilotórax, é extremamente rara e há conhecimento apenas um caso descrito na literatura. Embora os critérios diagnósticos do LPR não sejam claramente definidos, a biópsia renal é capaz de confirmar a doença. Geralmente, a nefrectomia é a opção padrão para a abordagem das massas renais, porém, no LPR, deve ser instituída a quimioterapia. Portanto, o conhecimento dessa doença é essencial para tornar possíveis o diagnóstico diferencial precoce, a prescrição correta do tratamento e uma melhor resposta terapêutica. **Material e métodos:** Paciente, sexo masculino, 36 anos, com queixa de dor em flanco direito havia quatro meses. Procurou por diversas vezes serviços de emergência, onde recebia medicação analgésica com melhora temporária do quadro. Por causa da recorrência dos sintomas foi feita tomografia de abdome: formação expansiva sólida que infiltrava quase todo o rim direito e imagem nodular que media 3,5 cm no terço médio do rim esquerdo, com infiltração no sistema coletor, linfonodos retrocraurais e periaórticos que mediam até cerca de 1,5 cm. Feita biópsia renal. Anátomo-patológico: consistente com linfoma difuso de grandes células B, confirmado pela imuno-histoquímica, que foi positiva para CD 20, Ki 67, CD10 e negativo para CD3, CD99, CD30, CD34 e MPO. Posteriormente, evoluiu com dispneia, foi constatado derrame pleural à direita, feita a toracocentese e confirmado quilotórax: triglicérides 2.260 mg/dL. Em internação hospitalar foi feito estadiamento, que revelou ausência de outros comprometimentos. Foram instituídas dieta hipó-

gordurosa via oral, drenagem torácica e quimioterapia com o esquema R-CHOP. Paciente segue bem clinicamente após seis ciclos de quimioterapia. **Conclusão:** O presente relato ressalta a raridade do caso e a importância da acurácia diagnóstica, uma vez que na maioria dos tumores renais o tratamento consiste inicialmente de nefrectomia. Neste caso a confirmação diagnóstica de linfoma por biópsia renal evitou a nefrectomia e permitiu o tratamento adequado e precoce.

392. DIAGNÓSTICO DE LINFOMA LINFOPLASMÁCITICO/MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM COM FENÓTIPO ATÍPICO – RELATO DE CASO

Delgado TSF, Auat M, Santos SC, Dametto GC, Cardoso CC, Santos IM, Rudolf-Oliveira RCM, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Introdução: A macroglobulinemia de Waldenström (MW) é uma doença rara que compreende cerca de 2% das neoplasias hematológicas. É mais frequente em indivíduos do gênero masculino com média de 70 anos. É definida como uma forma de linfoma linfoplasmácítico (LLP) com comprometimento de medula óssea (MO) e produção da paraproteína IgM. Por sua vez, o LLP é um subtipo de linfoma que apresenta expansão monoclonal de linfócitos B pequenos associada à presença de linfócitos plasmocitoides e plasmócitos, em que todos expressam restrição do mesmo tipo de cadeia leve. De acordo com a classificação da Organização Mundial da Saúde (2008), as células patológicas do LLP/MW geralmente expressam os marcadores de células B (CD19, CD20, CD22 e CD79a), apresentam IgM de superfície e não expressam CD5, CD10, CD23 e CD103. Além disso, a expressão de CD25 e CD38 é frequente, mas variável. A expressão aberrante de CD10 já foi relatada em casos de LLP/MW. Os plasmócitos apresentam cyIgM, CD38 e CD138, além da restrição de cadeia leve. A presença do componente monoclonal IgM e o fenótipo celular diferenciam o LLP/MW de outras neoplasias com diferenciação plasmocitoide. **Objetivo:** Relatar um caso de LLP/MW com fenótipo atípico diagnosticado por IMF e imuno-histoquímica (IHQ). **Relato de caso:** Paciente do gênero masculino, 52 anos, foi admitido com enterorragia, astenia, anemia, plaquetopenia e linfonodomegalias múltiplas. A imunoeletroforese evidenciou um componente monoclonal IgM associado à cadeia leve Igλ, com uma concentração sérica de 1.150,9 mg/dL (valor de referência: 73 a 171 mg/dL). A IMF do aspirado de MO evidenciou a presença de 14,7% de células linfóides B maduras (CD19, CD20), com restrição de cadeia leve Igλ, expressão de CD79b, CD22, CD10, IgM e CD38 e ausência de expressão de CD5, CD23, CD25, CD103 e CD138. Além disso, observou-se 1% de plasmócitos (CD38, CD138) monoclonais (cyIgλ), com expressão de CD19, CD45, beta-2-microglobulina, CD81, CD27 e ausência de CD56, CD117 e CD28. A IHQ confirmou a presença de plasmócitos e linfócitos B neoplásicos, ambos com restrição de cadeia leve Igλ. **Conclusão:** A presença concomitante de linfócitos B e plasmócitos monoclonais e a presença do componente monoclonal IgM indicam o diagnóstico de LLP/MW, apesar do fenótipo atípico dos linfócitos B (CD10 positivo e CD25 negativo). O conhecimento das variações fenotípicas durante a diferenciação linfóide B é de extrema importância para definir corretamente o diagnóstico de LLP/MW. Além disso, o diagnóstico correto dos diferentes tipos de neoplasias de células plasmocitárias deve se basear na compilação dos resultados laboratoriais, da morfologia e do fenótipo celular e dos dados clínicos do paciente.

393. LINFOMA PLASMOBLÁSTICO EM PACIENTES HIV NEGATIVOS – RELATO DE CASOS E REVISÃO DA LITERATURA

Brasil SAB, Massarenti M, Matias JO, Vicente AA, Arca GL, Chiattoni CS

Irmandade da Santa Casa de Misericórdia, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Linfoma plasmoblástico (LPB) é uma variante do linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B (LDGCB), geralmente associado aos pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e ao vírus Epstein-Barr (EBV). Atinge preferencialmente o sexo masculino, com média de 58 anos, com comprometimento predominante da cavidade oral. Na última década têm sido relatados casos de LPB em sítios extraorais e indivíduos imunocompetentes. Para seu diagnóstico deve-se lembrar que, embora seja variante do LDGCB, não há expressão de marcadores de células B (CD20, CD79a, PAX5) com forte reatividade para marcadores associados a células plasmáticas (MUM1, CD38 e CD138). A so-

brevida média varia de nove a 14 meses e caracteriza uma doença agressiva com alta taxa de recaída e morte. **Material e métodos:** Análise retrospectiva de uma série de quatro casos com diagnóstico de linfoma plasmoblástico com sorologia negativa para HIV em acompanhamento no ambulatório de linfoma não Hodgkin da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. **Resultados:** Foram avaliados quatro casos de LPB em pacientes HIV negativos, três do sexo masculino e um sexo feminino, com mediana de 46 anos (34 a 79). O comprometimento de cavidade oral foi identificado em três casos e o intestinal em um caso. Todos apresentavam CD20 negativo, CD138 positivo e três hibridização *in situ* para EBV positiva. Identificamos estadiamentos IA, IIA e IVB. Um caso não foi avaliado por causa da morte precoce. Dois casos apresentavam Índice de Prognóstico Internacional (IPI) de 1, um caso IPI de 3 e um caso não foi avaliado. Quanto ao tratamento, um paciente recebeu EPOCH (etoposídeo, prednisona, vincristina, doxorubicina e ciclofosfamida) e transplante autólogo de células-tronco hematopoéticas e obteve resposta completa. Dois receberam seis ciclos de CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona). Um deles teve progressão de doença e foi submetido a um ciclo de DHAP (dexametasona, cisplatina e citarabina), porém evoluiu a óbito por choque séptico. O outro paciente aguarda avaliação de resposta, sem evidência clínica de doença. O quarto caso não foi tratado por causa da morte precoce por choque séptico. Dois casos seguem em acompanhamento, com tempo de diagnóstico de sete e 24 meses. O paciente falecido durante o tratamento teve 11 meses de sobrevida. **Discussão:** O LPB em pacientes HIV negativos tem predileção pela cavidade oral, como identificado na nossa amostra, assim como predominância no sexo masculino. Cerca de 46% apresentam hibridização positiva para EBV, número menor do que o encontrado nesta casuística (75%). O estadiamento geralmente é avançado (III e IV), dado não compatível com os achados de estágio I e II em dois dos casos relatados. O tratamento não é padronizado, mas a quimioterapia é importante como terapêutica inicial. O esquema CHOP não mostrou taxa de sobrevida inferior a regimes intensivos como EPOCH e HyperCVAD. **Conclusão:** Nossos dados não permitem concluir o melhor esquema terapêutico para o LPB.

394. TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO INTENSIFICADO PARA LINFOMA NÃO HODGKIN DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B COM INFILTRAÇÃO DE SNC – RELATO DE CASO

Abrahamo ABK, Lóiola FN, Vieira GMM, Sousa VS, Felismino TC, Fernandes VTO, Amorim CVV, Nery RC, Gomes AM, Fanelli MF

A.C Camargo Cancer Center, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma não Hodgkin (LNH) é a quinta causa de morte relacionada ao câncer nos Estados Unidos e sua incidência aumentou nos últimos 40 anos. O linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B (LNHDGCB) é o subtipo de neoplasia mais comum entre os LNH, responsável por até 40% dos casos. A maioria dos casos não tem etiologia definida, porém sugere-se que fatores hereditários, ambientais, ocupacionais, dietéticos e alguns agentes infecciosos possam estar envolvidos. Além disso, indivíduos com imunodeficiência hereditária ou adquirida também têm maior predisposição a terem LNH. Há cerca de 30 anos é sabido que uso de quimioterapia pode curar pacientes com LNH. Na última década, avanços na medicina molecular trouxeram novas perspectivas no tratamento desses pacientes, com aumento na sobrevida global (SG) e na sobrevida livre de recidiva (SLR). A associação do rituximabe ao tratamento quimioterápico mostrou ser bem tolerada e tornou-se o tratamento padrão em primeira linha para pacientes com LNHDGCB com expressão de CD20. **Relato de caso:** M.P.D., sexo feminino, 33 anos, previamente hígida, iniciou quadro de cefaleia de forte intensidade e crise convulsiva tônico-clônica generalizada em agosto de 2013. TC de crânio demonstrou lesão expansiva isoatenuante a substância cinza e com intenso realce pelo meio de contraste localizada na região frontal direita, com 2,6 x 1,3 cm, importante edema vasogênico e desvio da linha média com sinais de herniação subfalcina. Em 10/08/2013, foi submetida à ressecção de lesão, cuja avaliação patológica revelou linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B (LNHDGCB) com a seguinte marcação imuno-histoquímica: CD20+; Pax5+; CD10-; Bcl2+; Bcl6+; Ki67 > 100%, FISH c-myc não feito. Evoluiu com boa recuperação pós-operatória. Estadiamento com biópsia de medula óssea não demonstrou infiltração medular e o PET/CT mostrou doença linfodenal em cadeias cervical direita e esquerda (SUV máxima 10,7), cadeia

pré-auricular esquerda (SUV 5,3) e linfonodo peripancreático (SUV 5,9). Assim, a paciente foi classificada como estágio IV e IPI = 1. De 09/10/2013 a 11/03/2014, a foi submetida a poliquimioterapia com esquema LMB 95 (braço C) com COP, COPADM1 e CYVE por dois ciclos associado ao rituximabe. Em 04/04/2014 foi submetida a reavaliação com RNM de crânio e PET/CT, ambos sem evidência de doença. Optou-se por tratamento de consolidação com radioterapia de crânio total com 24 Gy. Há cinco meses sem evidência de doença linfoproliferativa e em seguimento clínico.

Conclusão: LNHDGCB com comprometimento de SNC tem prognóstico reservado. Há poucos dados na literatura sobre tratamento padrão, porém pode haver benefício de tratamento quimioterápico intensivo com protocolos semelhantes ao tratamento de linfoma não Hodgkin de Burkitt, com metotrexate, citarabina e etoposide em altas doses.

395. SÍNDROME DO SEIO CAVERNOSO SECUNDÁRIA A LINFOMA NÃO HODGKIN DIFUSO DE CÉLULAS B

Bastos VQA, Neto AEH

Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: A síndrome do seio cavernoso (SSC) caracteriza-se pelo acometimento de pelo menos dois dos pares cranianos que o atravessam: III, IV, V (ramos oftálmico e maxilar), VI e fibras oculossimpáticas. As principais causas são: inflamações, tumores, afecções vasculares e infecções, com repercussão unilateral na maioria dos casos. A afecção bilateral é rara e nesses casos predominam as causas vasculares. Representa 5% de todos os casos de oftalmoplegia. As alterações inflamatórias e neoplásicas são as causas mais comuns. **Objetivo:** Relatar um caso de SSC secundária a linfoma não Hodgkin. **Relato do caso:** Mulher, 47 anos, com quadro de cefaleia retro-orbitária à esquerda, de forte intensidade, que piorava com a movimentação ocular. Evoluiu com ptose palpebral, oftalmoplegia bilateral e parestesias em hemiface esquerda. Referia sudorese, calafrios, prurido noturno, perda ponderal e linfodomegalia. Ao exame apresentava-se emagrecida, com linfodomegalia dolorosa cervical, pupilas médio-fixas, ptose palpebral bilateral, paralisia do III, IV, VI nervos cranianos (NC) bilateralmente e hipoestesia em V1 e V2 à esquerda. Exames demonstraram um pan-hipopituitarismo e ressonância magnética (RM) de encéfalo evidenciou lesão expansiva extra-axial que comprometia a região dos seios cavernosos bilateralmente. Estudo anatomopatológico de linfonodo evidenciou linfoma não Hodgkin difuso de células B. Iniciado tratamento com prednisona, levotiroxina, quimioterapia intratecal com metotrexate 12 mg/mensal (quatro ciclos) associada a quimioterapia sistêmica com rituximabe, doxorubicina, vincristina e ciclofosfamida mensal (oito ciclos). Após seis meses, evoluiu com miocardiopatia dilatada secundária à quimioterapia e melhora completa do déficit neurológico. Fez nova RM de encéfalo que demonstrou redução significativa da lesão. **Discussão:** O linfoma não Hodgkin invade o sistema nervoso de forma mais agressiva e com maior frequência e afeta cerca de 30% dos casos. Os achados clínicos mais comuns em pacientes com envolvimento do seio cavernoso são paralisia do VI NC e dor retro-orbitária. **Conclusão:** Esse envolvimento pode ser o primeiro sinal de um linfoma e surgir de forma súbita, conforme observado neste caso, ou progressiva.

Referências:

- Julien J, Ferrer X, Drouillard J, Philippe JC, Desbordes P. Cavernous sinus syndrome due to lymphoma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1984;47(5):558-60.
- Kasner SE, Galetta SL, Vaughn DJ. Cavernous sinus syndrome in Hodgkin's disease. *J Neuroophthalmol*. 1996;16(3):204-7.
- Mora-de-Onate J, Pascual-Pérez-Alfaro R, Izquierdo-Vázquez C, González-Ruiz M, Aguirrebeña-Olmos A, Díez-Villalba R. Oftalmoplejía dolorosa (pseudotumor y síndrome de Tolosa-Hunt). *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2007;82:509-12.
- Vilela VM, Marques HC, Carvalho RE, Zavelinske E, Duque AG, Dutra BL. Síndrome do seio cavernoso secundária a mucormicose rino-orbitocelular. *Radiol Bras*. 2013;46(3):187-9.
- Barreira Junior AK, Moura FC, Monteiro ML. Linfoma não Hodgkin bilateral do seio cavernoso como manifestação inicial da síndrome de imunodeficiência adquirida: relato de caso. *Arq Bras Oftalmol*. 2011; 74(2):130-1.

396. ESPLENECTOMIA NO LINFOMA DE ZONA MARGINAL: TERAPIA EM DESUSO NA ERA RITUXIMABE? – RELATO DE CASO E REVISÃO DE LITERATURA

Araujo CG, Vicari P, Sthel VM, Figueiredo VLP

Serviço de Hematologia, Hospital do Servidor Público Estadual, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma de zona marginal esplênica (LZME) é raro, menos de 2% de todos os linfomas diagnosticados. Acomete pacientes acima da sexta década de vida, cursa com acometimento de baço e linfonodos do hilo esplênico e pode envolver medula óssea e sangue periférico. Na era pré-rituximabe, o método mais usado e eficaz para reduzir o tamanho do baço e corrigir contagem de células sanguíneas era a esplenectomia, e foi considerada tratamento de escolha durante muitos anos. Agentes alquilantes isolados, assim como combinações quimioterápicas, com ou sem doxorubicina (CVP-CHOP), também foram usados no período, porém com eficácia limitada. O surgimento do anticorpo monoclonal anti-CD20 revolucionou o tratamento do linfoma folicular e do linfoma B difuso de grandes células e tem sido empregado no tratamento de LZME, em monoterapia. **Objetivo:** Relatar e discutir um caso de LZME, estágio avançado, em remissão clínica e hematológica completa após quatro anos de esplenectomia como único tratamento. **Relato de caso:** Paciente de 64 anos, sexo feminino, hipertensa, foi encaminhada por causa de plaquetopenia em exame de rotina, esplenomegalia homogenea sem demais alterações. Na investigação apresentava ausência de sintomas B, imunofenotipagem de medula óssea compatível com infiltração por linfoma não Hodgkin da zona marginal, com 8,5% de linfócitos B monoclonais (positivos: Kappa, CD19, CD22, CD23 parcial, CD20 forte, sIgM, CD 24 moderado, FMC7 moderado, Bcl2). Tomografias não evidenciaram linfadenomegalias e/ou outras visceromegalias. PETscan: com captação somente esplênica. Foi submetida a esplenectomia, com anátomo-patológico com imuno-histoquímica: Positivos CD20, CD79a, Bcl2, Ki67(5%). Atualmente, encontra-se em remissão da doença há quatro anos. **Discussão:** Em doenças raras, assim como o LZME, estudos prospectivos randomizados são impraticáveis e encontramos apenas estudos retrospectivos e observacionais. Alguns critérios para avaliação e comparação do tratamento tornam-se difíceis principalmente por ser uma doença rara e indolente. Fatores como sobrevida global estão prejudicados, pois uma porcentagem significativa dos doentes (até 30%) morre por outras comorbidades. A esplenectomia é tradicionalmente o método de diagnóstico e também terapia do LZME, mas recentemente alguns autores têm preferido o uso do rituximabe como tratamento de primeira escolha, principalmente em casos com alto risco cirúrgico e doença avançada. Estudos mais recentes tendem para o benefício do uso de rituximabe e destacam os riscos da esplenectomia em curto e longo prazo, embora muitos não apresentem dados estatisticamente significativos, assim como viés de comparação e interpretação. **Conclusão:** Embora alguns autores considerem a esplenectomia um tratamento paliativo nos casos de LZME em estágio avançado, por causa da presença de doença sistêmica e acometimento de medula óssea, presenciemos um caso de doença avançada (estágio 4) que apresentou remissão clínica e hematológica após esplenectomia exclusivamente e mantém remissão há quatro anos. Os diferentes benefícios da imunoterapia e da esplenectomia, assim como o reflexo na qualidade de vida e a duração da remissão, devem ser mais bem investigados.

397. LINFOMA T/NK EXTRANODAL TIPO NASAL – RELATO DE CASO

Torga JP^{ab}, Neves MCA^a, Campos CM^a, Souza SM^a, Hugo CPC^a, Chalup MMBS^a, Almeida JM^a, Silva PCL^a, Rocha SFG^a

^a Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Santa Casa de Misericórdia, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: O linfoma extranodal de células T/NK tipo nasal representa de 5% a 10% dos linfomas não Hodgkin. A etiologia da doença é desconhecida, mas há correlação com infecção pelo vírus Epstein-Barr. Acomete principalmente pacientes adultos do sexo masculino e apresenta um curso clínico agressivo. Os sintomas iniciais mais frequentes são obstrução nasal, geralmente unilateral, secreção nasal e epistaxe. A doença tem como diagnóstico diferencial doenças granulomatosas, neoplásicas, autoimunes e infecciosas. **Relato de caso:** Paciente C.S.M.,

sexo masculino, 63 anos, procedente de Belo Horizonte, iniciou quadro de obstrução, edema e ulceração nasal em dezembro de 2012. Houve pioria progressiva da lesão, com destruição de septo nasal e surgimento de secreção com odor fétido. Apresentou perda ponderal de 11 quilos desde o início dos sintomas, negou febre, disfagia e dispneia. À admissão hospitalar recebeu como hipóteses diagnósticas granulomatose de Wegener, hanseníase, leishmaniose e doença neoplásica. Por causa dos sinais de infecção da lesão nasal, associados ao surgimento de febre diária, recebeu antibioticoterapia com clindamicina. Houve melhora da secreção e persistência da febre. Foi feita biópsia da lesão, que evidenciou doença linfoproliferativa, com necessidade de estudo imuno-histoquímico, que revelou achados consistentes com o diagnóstico de linfoma T/NK extranodal tipo nasal. Após resultado da biópsia foi solicitada sorologia para vírus Epstein-Barr: IgM negativo, IgG positivo. Sorologia para leishmaniose negativa, P-ANCA e C-ANCA negativos. Iniciado tratamento radioterápico, com melhora importante da lesão nasal e desaparecimento da febre. Recebeu alta para seguimento ambulatorial e avaliação de quimioterapia. **Discussão:** O linfoma extranodal de células T/NK tipo nasal é comum em populações da Ásia e América Central. Deriva de células NK (CD2+ e CD56+). O diagnóstico é feito por estudo anatomopatológico e imuno-histoquímico. O tratamento consiste em quimioterapia e radioterapia. Os pacientes com doença localizada na região médio-facial se mantêm em remissão quando submetidos a radioterapia, associada ou não a quimioterapia. Entretanto, a sobrevida em longo prazo geralmente é baixa, em virtude das recidivas. Pacientes com doença avançada apresentam um prognóstico pior, com recidiva mais comum. **Conclusão:** O linfoma extranodal de células T/NK é uma doença rara, porém se manifesta inicialmente como outras doenças mais comuns na prática clínica. Deve ser considerado como diagnóstico diferencial em pacientes com lesões na região médio-facial, que inicialmente manifestam-se como rinorreia e obstrução nasal. O diagnóstico e a rápida instituição do tratamento são cruciais para que sejam evitadas complicações graves e potencialmente fatais, como hemorragias.

398. OCT1 GENE EXPRESSION IS AN INDEPENDENT PROGNOSTIC FACTOR IN DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA

Gouveia GR^a, Ferreira SC^b, Siqueira SAC^a, Pereira J^a

^a Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Fundação Pró-Sangue, São Paulo, SP, Brazil

Background: Transcription factors associated with the POU domain modulate the expression of several genes of B lymphoid differentiation, including the *IgH*. The study of these factors allowed for better understanding of the pathogenesis of lymphomas, and to establish the lineage and the differentiation stage of the malignant cell. The silencing of *OCT1* in tumor cell lines reduced its malignant transformation, but its ectopic expression enhanced the tumorigenesis ability. However, few studies has been evaluated the role of the *OCT1* gene expression in lymphoma. This study assessed the impact of the *OCT1* gene expression in the survival of patients with diffuse large B cell lymphoma (DLBCL). **Methods:** From January of 2006 to January of 2011, this study evaluated 77 patients with DLBCL treated with R-CHOP at Clinical Hospital and Cancer Institute of São Paulo University. The RNA was extracted from the paraffin block at lymphoma diagnosis, and gene expression analysis was performed by relative quantification method by real-time PCR (qRT-PCR). After data normalization using two different reference genes, the median expression of *OCT1* was obtained. The overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) were estimated by the Kaplan-Meier method. The relative risks were obtained by Cox regression bivariate intervals with 95% confidence. A significance level of 5% was established. IBM SPSS Statistics software version 20.0 was used. **Results:** Patients showing *OCT1* expression < the median presented higher OS ($p = 0.010$) and PFS ($p = 0.016$) than patients with *OCT1* expression \geq median, with a hazard rate (HR) for OS and PFS of 2.45 and 1.14, respectively. In the multivariate analysis, the PFS was also higher in patients with *OCT1* expression < the median ($p = 0.035$). Stratification by the international prognostic index (IPI) and age showed that the expression of *OCT1* < median showed a statistically significant difference in the OS ($p = 0.048$) in IPI intermediate-high (HI) and high (HR) patients ($p = 0.048$), with an HR of 2.32 in HI plus HR group. The PFS ($p = 0.025$) and OS ($p = 0.025$) were lower in patients ≥ 60 years and

with *OCT1* expression \geq the median. **Conclusion:** These data suggest that the expression of *OCT1* showed a predictive prognostic impact in DLBCL independently of IPI. Patients with lower expression of *OCT1* presented a better OS and PFS.

399. ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO GENE BCL2 EM LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B TRATADOS COM R-CHOP

Gouveia GR^a, Ferreira SC^b, Siqueira SAC^a, Pereira J^a

^a Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O proto-oncogene BCL2 apresenta um importante papel na gênese do linfoma, uma vez que traz uma série de vantagens para a sobrevida de células malignas B por meio de prevenção da morte celular programada, que resulta em resistência à quimioterapia. Embora a hiperexpressão desse gene geralmente seja associada a pior prognóstico, os resultados de diversos estudos que relatam a expressão de BCL2 em pacientes com linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) ainda são contraditórios. **Objetivo:** Avaliar o impacto da expressão desse gene na sobrevida de pacientes com LDGCB *de novo*. **Material e métodos:** Foram avaliados 77 pacientes com diagnóstico de LDGCB confirmado por exame anatomopatológico e imuno-histoquímica entre janeiro de 2006 e janeiro de 2011 e tratados com R-CHOP. O RNA foi extraído do bloco de parafina do diagnóstico e a análise da expressão gênica foi feita pelo método de quantificação relativa de PCR em tempo real (qRT-PCR). Após a normalização dos dados por dois genes de referência, foi calculada a mediana de expressão dos pacientes. Para avaliação da sobrevida global (SG) e da sobrevida livre de progressão (SLP) foram estimados os tempos médios de sobrevida pelo método de Kaplan-Meier. Os riscos relativos foram obtidos por regressão de Cox bivariada com intervalos de 95% de confiança. Os testes foram feitos com nível de significância de 5% e foi usado o software IBM SPSS Statistics, versão 20.0. **Resultados:** A mediana de sobrevida não foi atingida até o momento da análise. A mediana de SG foi de 892,06 dias (29,73 meses) e dos 77 pacientes avaliados, a expressão de BCL2 ocorreu em 45,45% ($n = 35/77$) dos casos. Desses, 40% ($n = 14/35$) apresentaram expressão inferior à mediana e 60% ($n = 21/35$) \geq a mediana. A mediana de SG foi de 1.590,37 dias (53,01 meses) para pacientes com expressão de BCL2 < mediana e de 1.029,32 dias (34,31 meses) para pacientes com expressão \geq a mediana. A mediana de SLP foi de 1.574,43 dias (52,18 meses) para pacientes com expressão de BCL2 < que a mediana e de 944,87 dias (31,49 meses) para pacientes com BCL2 \geq a mediana. Não observamos diferença estatisticamente significativa da expressão do gene BCL2 em relação à resposta completa ($p = 0,277$) e SG ($p = 0,860$). Porém, pacientes com expressão de BCL2 \geq a mediana apresentaram SLP inferior em relação aos pacientes com expressão abaixo da mediana ($p = 0,040$), com um risco 1,02 vez maior de progressão da doença. **Discussão:** Nossos dados corroboram resultados recentes que também observaram a perda do impacto prognóstico negativo da expressão do gene BCL2 em pacientes com LDGCB tratados com rituximabe. A adição do rituximabe ao regime de quimioterapia parece sobrepor a resistência à quimioterapia associada ao BCL2. Esse fármaco atua na via de sinalização intracelular P38/MAPK e promove a inibição das vias NF κ B e SP1; reduz a síntese de IL-10 e desregula a via STAT3, resulta em inibição do gene BCL2 e induzi a apoptose. A estratificação dos pacientes por subgrupos de IPI, estágio clínico e idade não evidenciou impacto prognóstico da expressão de BCL2 para SG ou SLP, apesar da tendência de maior expressão de BCL2 com o aumento da idade. **Conclusão:** Nossos dados sugerem ausência de impacto prognóstico da expressão de BCL2 na SG de pacientes com LDGCB tratados com R-CHOP. Porém, pacientes com expressão de BCL2 acima da mediana apresentaram menor SLP.

400. ANÁLISE DO IMPACTO DE FATORES DE PROGNÓSTICO NA SOBREVIDA DE PACIENTES COM LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B

Gouveia GR, Lage LAPC, Siqueira SAC, Pereira J

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Embora o linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) seja o subtipo de linfoma não Hodgkin mais comum no Ocidente e a quinta forma de câncer mais comum no Brasil, suas chances de cura permane-

cem de 50% a 60%. A compreensão dos fatores de prognóstico associados ao LDGCB é essencial para melhor delineamento terapêutico. **Objetivo:** Avaliar fatores de prognóstico clínicos associados ao LDGCB de novo. **Material e métodos:** Foram avaliados 98 pacientes com diagnóstico de LDGCB tratados com R-CHOP no Hospital das Clínicas/Instituto do Câncer do Estado de São Paulo de janeiro de 2006 a janeiro de 2011. Foram avaliadas as variáveis de sexo, idade, acometimento de medula óssea e sistema nervoso central, presença de *bulky*, número de sítios extralinfonodais comprometidos, presença de sintomas B, estágio clínico, **status performance** pelo ECOG, IPI e LDH. Para avaliar a associação entre as diversas variáveis e a resposta completa (RC) foi usado o teste exato de Fisher ou teste de razão de verossimilhanças. Para avaliação da sobrevida global (SG) e sobrevida livre de progressão (SLP) foram estimados os tempos médios de sobrevida pelo método de Kaplan-Meier. Os riscos relativos foram obtidos por regressão de Cox bivariada com intervalos de 95% de confiança. Os testes foram feitos com nível de significância de 5% e foi usado o **software** IBM SPSS Statistics, versão 20.0. **Resultados:** Embora a mediana de idade dos pacientes na literatura seja de 70 anos, com leve predomínio no sexo masculino (55%), em nossa população a idade mediana dos pacientes foi de 54,5 anos, com proporção igual de indivíduos dos sexos masculino e feminino (50%). Isso demonstra a importância de estudos epidemiológicos locais para fazer uma correta caracterização populacional da doença. A mediana de sobrevida ainda não foi atingida, porém a SG foi de 892,06 dias (29,73 meses). Não observamos associação estatisticamente significativa entre RC e as variáveis estudadas. Porém, observamos diferenças significativas para SG e SLP, respectivamente, em relação à idade acima 60 anos ($p = 0,010$ e $p = 0,011$), estágio III ou IV ($p < 0,001$), acometimento de dois ou mais sítios extralinfonodais ($p = 0,004$ e $p = 0,005$), DHL acima do normal ($p = 0,010$ e $p = 0,008$) e IPI intermediário-alto ou alto ($p < 0,001$). Em análise multivariada apenas a idade ($p < 0,001$) e o IPI ($p = 0,006$), permaneceram com significância estatística para SG e a idade ($p = 0,040$) e o estágio clínico ($p < 0,001$) para a SLP. **Conclusão:** A idade e o IPI foram os fatores mais importantes para sobrevida dos pacientes com LDGCB tratados com R-CHOP.

401. RELAÇÃO ENTRE O VÍRUS DA HEPATITE B (HBV) E LINFOMA DE CÉLULAS B PEQUENAS DIFUSO DA POLPA VERMELHA DO BAÇO (LDPVB) – RELATO DE DOIS CASOS

Fernandes CM, Cabral TCDS, Lage LAPC, Zerbini MCN, Siqueira SAC, Pereira J

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O LDPVB é um subtipo raro de linfoma, corresponde a menos de 1% dos linfomas não Hodgkin e é caracterizado pela infiltração difusa da polpa vermelha do baço por pequenos linfócitos B monomórficos. Tem evolução indolente, patogênese desconhecida e não há relato na literatura de casos associados à infecção pelo HBV. **Relato de caso:** 1) Mulher, 62 anos, com quadro de sintomas B e aumento do volume abdominal havia dois meses. Antecedente de artrite reumatoide e HBV crônico. Ao exame físico: esplenomegalia volumosa. Tomografias: hepatomegalia discreta e esplenomegalia volumosa, sem linfonodomegalia. Exames laboratoriais: Hb 8,8 g/dL e leucocitose com 21% de células linfoides atípicas, alta relação nucleocitoplasmática, cromatina frouxa, nucléolo pouco evidente e finas projeções citoplasmáticas. Imunofenotipagem (IF) de sangue periférico: células anômalas com CD19, CD20, FMC7, CD22, CD23 e CD79b fortes, CD25 e sIgM fracos, coexpressão reduzida do CD5, monoclonais kappa. CD200, CD10, CD11c e CD103 negativos. Feita esplenectomia, com anatomopatológico (AP) que mostrou infiltração por LDPVB, com CD20 e DBA-44 positivos, Ki67 baixo índice e CD3, CD5, CD10, CD23 e ciclina-D1 negativos. Dez meses após esplenectomia, apresentou sintomas B, edema palpebral assimétrico, derrame pleural, cálcio 18,9 mg/dL e DHL 3.000 U. Sangue periférico: 22% de células morfologicamente sugestivas de centroblastos. No líquido pleural havia infiltração por células neoplásicas com as mesmas características morfológicas. Na nova IF de sangue periférico perdeu expressão do CD5. Cariótipo normal. Ressonância magnética de órbita e encéfalo: infiltração do nervo óptico, glândulas lacrimais bilaterais e sistema nervoso central. Tomografias: imagens compatíveis com infiltração parenquimatosa renal e linfonodomegalias axilares e abdominais. Feito diagnóstico de transformação para linfoma B de alto grau e iniciado tratamento com RCHOP, quimioterapia intratecal, metotrexato em altas doses após término do RCHOP e radioterapia de órbitas, com programação de transplante autólogo de medula óssea em primeira re-

missão. 2) Mulher, 29 anos, com história de esplenomegalia havia sete anos e infecção crônica pelo HBV. Procurou nosso serviço com quadro de aumento da esplenomegalia, sintomas B e surgimento de adenomegalias intra-abdominais havia dois meses. Exames laboratoriais: Hb 8,1 g/dL, plaquetas 80.000, 85% de linfócitos anômalos com IF CD45 e CD20 fortes, CD19+, CD20 e CD25 fracos, CD23 e CD200 parcial, CD11c e CD103 negativos, monoclonal kappa. Cariótipo complexo. PET-CT: esplenomegalia (SUV: 6,1), hepatomegalia (SUV: 3,2), conglomerado linfonodal abdominal (SUV: 6,3), adenomegalias cervicais e mediastinais. Submetida a esplenectomia, cujo AP mostrou infiltração por LDPVB, e a imuno-histoquímica expressava CD20 e DBA44, Ki67 40%. CD5, CD10, CD23, CD3 e ciclina D1 negativos. Estabelecido diagnóstico de LDPVB em transformação para difuso de grandes células B e feito tratamento com R-CHOEP e programa do TCTH autólogo em primeira remissão completa. **Conclusão:** Relatamos dois casos de LDPVB com transformação para linfoma de alto grau em pacientes infectadas pelo HBV. Até o momento, esses são os primeiros casos em que são discutidas uma possível associação do LDPVB com a infecção pelo HBV e a transformação para linfoma de alto grau.

402. LINFOMA OCULAR DE CÉLULAS B DA ZONA MARGINAL – RELATO DE CASO E REVISÃO DA LITERATURA

Mateus RF^a, Camisa BM^a, Miotto FZ^a, Scherer JR^a, Becker MJ^a, Silva WA^b

^a Faculdade Assis Gurgacz (FAG), Cascavel, PR, Brasil

^b Centro de Oncologia de Cascavel (CEONC), Cascavel, PR, Brasil

Introdução: O linfoma orbitário é raro e compreende aproximadamente 10% de todas as neoplasias da órbita. A maioria dos linfomas não Hodgkin (LNH) dos anexos oculares é de linfomas extranodais de células B da zona marginal (LZM), também conhecidos como linfomas Malt. **Objetivo:** Relatar um caso de linfoma ocular de células B da zona marginal e revisão da literatura em relação à abordagem terapêutica. **Relato de caso:** Paciente feminino, 70 anos, procurou atendimento em fevereiro de 2012, com queixas de prurido ocular à esquerda, lacrimejamento e hiperemia havia dois meses. Ao exame físico, apenas hiperemia conjuntival discreta. À biomicroscopia do olho esquerdo, densidade endotelial diminuída para a idade. Foi solicitada biópsia, cuja amostra representava tenon de região limbar, mucosa e membrana intermuscular, na qual foi feita imuno-histoquímica, que identificou infiltração linfoepitelial e sugeriu a hipótese de pseudolinfoma pela insuficiência de critérios classificatórios. Houve perda de seguimento, até que em setembro de 2013 a paciente retornou com os mesmos sintomas e proptose ocular à esquerda, associado a extensa proliferação de aspecto linfático em conjuntiva bulbar, com presença de vasos sanguíneos, que ocupava toda a região superior e a maior parte da medial, se estendendo até o limbo, porém sem oclusão do eixo visual e mobilidade ocular extrínseca preservada. Optou-se por nova biópsia e imuno-histoquímica, que se apresentou compatível com linfoma de células B da zona marginal. Foram feitos estudos com tomografia computadorizada (TC) de crânio, pescoço e órbitas, que revelaram achado isolado de aumento do volume do músculo reto superior esquerdo, com intensa impregnação pelo contraste, que acometia ventre e tendão, com borramento de gordura adjacente. Uma vez identificada a natureza localizada da doença, estágio IE (Ann Arbor System), e considerando a localização da lesão, foram programados seis ciclos de quimioterapia com ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona e CHOP a cada 21 dias. A paciente evoluiu com melhoria dos sintomas oculares e regressão da proliferação em conjuntiva bulbar já após o primeiro ciclo. Após o quarto, nova TC de órbitas evidenciou regressão do espessamento do músculo reto superior esquerdo, que estava ainda melhor na TC feita após o sexto ciclo. **Discussão:** Os linfomas Malt são responsáveis por 5-17% de todos os casos de LNH e respondem por mais de 90% dos linfomas que acometem os anexos oculares, mas podem se originar em diversos tecidos, como glândula salivar, tireoide, pulmão, mama e pele, entre outros. Por causa da raridade da doença, carecem estudos prospectivos randomizados que definam um consenso terapêutico. A literatura sugere que o tratamento deve ser orientado conforme a extensão da doença, localização e necessidades de cada paciente e estudos têm demonstrado ótima resposta com radiação locorreional e esquemas quimioterápicos usados no tratamento de LNH indolentes. **Conclusão:** Apresentamos um caso de linfoma ocular de células B da zona marginal conduzido com quimioterapia que evoluiu com controle local da doença, demonstrado por exames de TC seriados, melhoria completa dos sintomas oculares e ausência de perdas funcionais. Aguardamos resultados de terapias mais

recentes que envolvam rituximab, bendamustine, everolimus, lenalidomida e vorinostat, que estão sendo estudados no contexto dos LZM.

403. NEUROTOXICIDADE SECUNDÁRIA À QUIMIOTERAPIA COM IFOSFAMIDA – RELATO DE CASO

Chalup MMBS, Torga JP, Neves MCA, Souza SM, Campos CM, Hugo CPC, Almeida JM, Ribeiro CCODS, Silva PCL, Rocha SFG

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: Diversos quimioterápicos podem causar efeitos neurotóxicos. O mais comum é a neuropatia periférica. Entretanto, podem ocorrer alterações, como encefalopatia, meningite asséptica e acidentes vasculares encefálicos, entre outras. Esse efeito pode resultar de diversos mecanismos, seja por toxicidade direta ou indireta, efeitos cerebrovasculares e desordens autoimunes. A ifosfamida é um análogo da ciclofosfamida com ocorrência de neurotoxicidade em 10-30% dos pacientes, atribuída ao acúmulo de acetaldeído, um de seus metabólitos. Ocorre sob a forma de encefalopatia e, menos frequentemente, crises convulsivas, mioclonias, ataxia, fraqueza, disfunção de pares cranianos, neuropatia periférica e síndrome extrapiramidal. **Objetivo:** Discutir potenciais efeitos neurotóxicos da ifosfamida e enfatizar a importância de correlacionar sintomas recentes ao uso da droga. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 52 anos, com diagnóstico de linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B em 2012, estadiamento IV B, tratado inicialmente com oito ciclos de R-CHOP (rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona). Foi detectada doença refratária. Iniciado então esquema de resgate com DHAP (dexametasona, cisplatina e citarabina), suspenso após o primeiro ciclo por nefrotoxicidade grave a cisplatina. Permaneceu com disfunção renal crônica estágio III. Atualmente em tratamento de resgate com esquema ICE (ifosfamida, carboplatina e etoposide), em dose corrigida para a disfunção renal. Admitido em 24/07/2014 no pronto-atendimento do Hospital das Clínicas da UFMG com confusão mental, agitação psicomotora e mioclonias iniciados após oito horas da infusão do terceiro ciclo do esquema ICE. Feita ampla propedêutica para causas infecciosas, inflamatórias, metabólicas ou vasculares, por meio de exames de imagem (tomografia computadorizada de crânio, radiografia de tórax), análise bioquímica e microbiológica do sangue, urina e líquido. Não foram encontradas alterações que justificassem os sintomas. O paciente evoluiu com melhora completa após 72 horas da admissão hospitalar. Paciente com histórico de internação recente por quadro neurológico semelhante ocorrido após o segundo ciclo do mesmo esquema quimioterápico, porém, na ocasião, o rebaixamento do sensorio foi atribuído a quadro infeccioso por *Klebsiella sp* multissensível e não houve a ocorrência de mioclonias. A melhora neurológica ocorreu concomitantemente ao tratamento antimicrobiano, de forma que não havia sido estabelecida relação causal direta entre os quimioterápicos e o rebaixamento do sensorio. **Discussão:** Alguns grupos de pacientes apresentam risco aumentado de desenvolver neurotoxicidade por ifosfamida, entre eles os nefropatas, os com histórico de neurotoxicidade prévia à droga, hipoalbuminemia e tratamento prévio com cisplatina. Os sintomas geralmente surgem algumas horas após a administração da medicação e resolvem-se espontaneamente após alguns dias. Alguns estudos sugerem o uso de dexmedetomidina, tiamina ou azul de metileno como opções terapêuticas. **Conclusão:** O reconhecimento de complicações neurológicas que envolvem os quimioterápicos é de extrema importância em função da amplitude de diagnósticos diferenciais que podem requerer tratamento específico e da necessidade de suspender ou modificar a dose da droga responsável pelo efeito neurotóxico.

404. LINFOMA PRIMÁRIO DE MEDIASTINO E INFILTRAÇÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL – RELATO DE CASO

Paiva VMD, Avó HS, Silva JBCB

Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Linfoma primário do mediastino de grandes células B (LPMGCB) é subtipo raro de linfoma difuso, derivado de linfócitos B maduros do timo. LPMGCB geralmente é observado em adultos jovens com rápido crescimento de massa no mediastino anterior. É mais prevalente em mulheres, com taxa de homens para mulheres 1:2. Esse tipo de linfoma é condição incomum, porém não é raro. A recorrência no sistema

nerroso central (SNC) é infrequente e acomete aproximadamente 6% dos pacientes, cerca de cinco a 12 meses após o diagnóstico inicial. **Objetivo:** Descrever caso clínico e suas possíveis intercorrências neurológicas. **Material e métodos:** Levantamento de dados do prontuário do paciente em questão. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 18 anos, diagnosticado com LPMGCB em março de 2013, que evoluiu com tromboembolismo pulmonar e tamponamento cardíaco, tratado com R-CHOP (rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona), com resposta completa após oito ciclos. Deu entrada em hospital universitário em janeiro de 2014, um mês após recaída da doença mediastinal e 15 dias após primeira dose de quimioterapia de resgate com o protocolo DHAP (dexametasona, alta dose de citarabina e cisplatina), e relatou que havia apresentado episódio de paralisia facial bilateral associada a alteração da fala; nessa época a tomografia de crânio não apresentava anormalidades. Três dias após, observou dificuldade para deglutir e cefaleia frontal em peso sem sinais de alarme e de fraca intensidade. Nesse período houve instalação de desvio divergente dos olhos. Na ressonância magnética dessa ocasião havia espessamento da paquimeninge, com lesões extra-axiais que envolviam as fossas médias, o *cavum* trigeminal, os nervos cranianos e as hastes hipofisárias. Optou-se por coletar líquido, cuja cultura foi negativa, enquanto suas proteínas estavam aumentadas no valor de 115,3 mg/dL (valor de referência: 15-45 mg/dL). Foi aventado diagnóstico de infiltração do LPMGCB no SNC e considerada progressão de doença em vigência do protocolo DHAP. Assim, foi introduzida quimioterapia com protocolo HyperCVAD, iniciado pelo ciclo par (metotrexate e citarabina, ambos em alta dose). No entanto, novamente não houve êxito no tratamento e o paciente evoluiu a óbito. **Discussão:** Envolvimento secundário no SNC é um evento infrequente e quase sempre fatal nos casos de LPMGCB e pode ser um evento isolado ou parte de uma infiltração generalizada. Os fatores de risco são: envolvimento extranodal múltiplo, aumento dos níveis séricos de desidrogenase lática, infiltração medular, extremos de idades, sintomas B e baixa albumina. Entre eles, o paciente do caso apresentava somente extremo de idade. As terapias disponíveis não se mostraram eficazes, por isso usou-se profilaxia que associava rituximabe ao esquema CHOP no momento do diagnóstico inicial, o que melhora o prognóstico do LPMGCB. Apesar de nosso paciente ter usado terapia R-CHOP, não respondeu ao tratamento e foi necessária outra abordagem, que evoluiu com o desfecho mais comum, segundo a literatura. **Conclusão:** Acometimento do SNC apresenta um padrão de disseminação infrequente do LPMGCB. O prognóstico é ruim e a introdução da profilaxia é pouco estudada. Portanto, é importante o acompanhamento desses pacientes para tentar incrementar o prognóstico.

405. PERFIL DOS PACIENTES COM LINFOMAS HODGKIN E NÃO HODGKIN ACOMPANHADOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO (HC-UFTM) NOS ÚLTIMOS CINCO ANOS

Vazquez BP^a, Souza BMB^a, Silva SS^{a,b}

^a Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brasil

^b Hemocentro Regional de Uberaba, Fundação Hemominas, Uberaba, MG, Brasil

Introdução: Os linfomas são neoplasias originárias dos linfócitos, divididas em Hodgkin (LH) e não Hodgkin (LNH). Têm como fatores etiológicos infecções, exposição a agentes sensibilizantes, imunodeficiência ou associação familiar. **Objetivo:** Avaliar o perfil dos pacientes acompanhados no serviço de Hematologia do HC-UFTM com diagnóstico de linfoma. **Material e métodos:** Estudo epidemiológico retrospectivo com análise de todos os pacientes diagnosticados com linfoma (LH ou LNH) nos últimos cinco anos de acordo com gênero, localização geográfica do paciente, atividade profissional, contato com agrotóxicos/exposição à radiação, idade de aparecimento dos sinais e sintomas, tempo entre os sintomas e diagnóstico definitivo, doenças preexistentes, subtipo histológico de linfoma, adesão ao tratamento preconizado e prognóstico do paciente. **Resultados:** Foram estudados 67 pacientes, 52,2% do gênero masculino e 47,8% do feminino, com predomínio da faixa de 51 a 60 anos ao diagnóstico e da etnia branca (67,1%). A maioria, 86,6%, foi procedente do Triângulo Sul (região atendida pelo HC-UFTM). Desses, 53,7% eram naturais de Uberaba. Evidenciou-se que os dados de zona de origem, profissão e escolaridade não foram encontrados nos prontuários. Quanto aos fatores de risco, 47,8% dos pacientes afirmaram ter histórico tabágico, 43,37% histórico de utilismo e 64,2% apresentavam comorbidades, porém a maioria sem imunodepressão associada (65,7%). Informações acerca de drogadi-

ção, oncolítico com pesticidas e com agrotóxicos foram majoritariamente não avaliadas pelos profissionais assistentes. A clínica predominante constituiu-se de sintomas B (76,1%) e/ou linfadenomegalia (40,3%), com tempo de evolução de até três meses (50,7%). Houve 49 casos de LNH (73,1%) e 18 de LH (26,9%), com predomínio de diagnósticos primários já em estágios avançados. O tratamento principal foi a quimioterapia associada ou não a radioterapia, cirurgia ou transplante de medula óssea. Entre os pacientes, 49,3% fizeram de seis a nove ciclos de quimioterapia, 86,6% não necessitaram de ciclos adicionais e 38,8% evoluíram a óbito, com 80,8% de mortes decorrentes do linfoma. Isoladamente, os casos de LH apresentaram média de 38,35 anos, com predomínio no gênero masculino (64,7%), subtipo mais comum o LH tipo esclerose nodular (66,7%) e mortalidade de 23,5%. Já os casos de LNH apresentaram média de 54,54 anos, com predomínio no gênero feminino (52%), subtipo mais comum o LNH difuso de grandes células B (28,6%) e mortalidade de 44%. **Conclusão:** Nos últimos cinco anos 67 pacientes com diagnóstico de linfoma foram atendidos no nosso serviço, 18 LH e 49 LNH, com mortalidade de 23,5% e 44%, respectivamente. A maioria dos pacientes não tinha associação com imunodepressão. Em relação aos fatores de risco ambientais, evidenciamos que por meio dos registros de prontuários não foi possível identificá-los, o que demonstra a necessidade de conscientizar os profissionais que atendem a esses pacientes sobre a relevância desses registros. **Financiamento:** Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

406. INTERCORRÊNCIAS NEUROLÓGICAS EM PACIENTES ADULTOS INTERNADOS PORTADORES DE LINFOMAS

Resende LSR, Monteiro FF, Yasuda AG, Costa CM, Santos DF, Janjacomo G, Domingues MC, Niéro-Melo L, Bazan R, Resende LAL

Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: São descritas variadas complicações neurológicas associadas a neoplasias hematológicas. Tais complicações, geralmente graves, demandam pronto atendimento multidisciplinar, que pode ser decisivo para a sobrevivência do paciente ou para a instalação de sequelas temporárias/permanentes. **Objetivo:** Analisar as complicações neurológicas observadas em pacientes adultos diagnosticados com linfomas não Hodgkin (LNH) e linfomas de Hodgkin (LH) internados num hospital universitário público durante oito anos. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo clínico, laboratorial, de imagens e de traçados diagnósticos de pacientes adultos envolvidos na interdisciplinaridade Hematologia-Neurologia no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP) que cursaram com complicações neurológicas durante a evolução de linfomas, por meio da análise de dados das respectivas internações pela hematologia, de 2005 a 2012. **Resultados:** No período, 71% dos pacientes internados pela hematologia eram portadores de doenças onco-hematológicas (368/519). Desses, 28,8% apresentaram intercorrências neurológicas (106/368), que totalizaram 125 episódios. Entre os 368 portadores de neoplasias, havia 125 casos de LNH e 40 de LH; 24% dos pacientes com LNH (30/125) e 5% (2/40) com LH apresentaram complicações neurológicas centrais, no total de 32 episódios (19,4% dos pacientes com linfomas; 32/165). Os LNH incluíram: dois casos primários de encefalo; três casos com envolvimento encefálico a partir de sítios primários adjacentes; um caso com envolvimento encefálico a partir de sítio primário distante; três casos com infiltrações líquóricas assintomáticas; um caso com infiltração de nervos ópticos a partir de tumor orbitário; um caso com hemorragia retiniana bilateral por trombopenia; um caso de abscesso cerebral; um caso de infecção fúngica no parênquima encefálico; um caso de encefalite viral; quatro casos de compressão mielorrádica a partir de LNH adjacentes à medula nervosa (dois deles também com infiltração líquórica); um caso de cefaleia pós-punção lombar; um caso de cefaleia tensional; e 10 alterações neurológicas decorrentes do uso de drogas neurosupressoras (dois casos) ou de distúrbios metabólicos variados (oito casos). Os pacientes com LH tiveram encefalite viral e convulsão por distúrbio metabólico, respectivamente. **Discussão:** As intercorrências neurológicas centrais observadas em linfomas decorrem, direta ou indiretamente e na maioria das vezes, da própria neoplasia e de seu tratamento. Muitas dessas intercorrências são potencialmente letais ou dei-

xam sequelas permanentes. É importante reconhecê-las e tratá-las precocemente e, quando possível, instituir profilaxia. **Conclusão:** Cerca de 20% dos pacientes admitidos no nosso serviço com linfomas desenvolveram intercorrências neurológicas de gravidade variável, que foram seis vezes mais prevalentes nos casos de LNH do que nos de LH.

407. CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL EPIDEMIOLÓGICO, DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE ADULTOS PORTADORES DE LINFOMAS EM UM CENTRO DE ONCOLOGIA DE SERGIPE

Caires LF^a, Alves WPT^a, Pinheiro LHS^a, Vale YFD^a, Andrade LGR^a, Menezes DL^a, Cruz GS^b, Schimieguel DM^a

^a Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, Brasil

^b Hospital de Urgência de Sergipe, Aracaju, SE, Brasil

Introdução: Os linfomas são doenças linfoproliferativas que se caracterizam por proliferações clonais malignas de linfócitos ou de seus precursores, de origem e evolução variáveis. São distribuídos em dois grandes grupos, de acordo com o tipo histológico, em linfoma de Hodgkin (LH) e linfoma não Hodgkin (LNH). Os linfomas são a sexta causa de câncer mais frequente no mundo e o tipo de neoplasia que apresentou maior aumento na incidência nos últimos 20 anos, com uma variação de 4% por ano. Esse grupo de doenças necessita de um diagnóstico detalhado, por meio de técnicas avançadas, que fornecem resultados precisos e rápidos e impactam nos prognósticos, nos tratamentos e na expectativa de vida do paciente. **Objetivo:** Caracterizar o perfil epidemiológico, de diagnóstico e de tratamento de adultos portadores de linfomas em um centro de oncologia de Sergipe, de janeiro a dezembro de 2012. **Material e métodos:** Estudo descritivo observacional retrospectivo de prevalência que empregou coleta de dados de prontuários médicos. As neoplasias foram analisadas em 83 prontuários, 30 (36%) de LNH e sete (8%) de LH. Em relação ao gênero, a predominância foi do sexo masculino, 71% nos LH e 53% nos LNH. A idade variou de 34 a 90 anos (m = 63) para os LNH e de 22 a 50 (m = 43) para os LH. Todos os portadores de LH eram naturais de Sergipe; dos portadores de LNH, 27 eram de Sergipe, dois de Alagoas e um da Bahia. **Resultados:** Na estratificação por subtipos dos LH, seis foram do tipo clássico e um esclerose nodular. Dos LNH, 18 (60%) foram do subtipo difuso de grandes células B; dois anaplásicos; um da célula do manto; um linfoblástico; um de zona marginal; um de pequenas células; um de Burkitt e quatro sem classificação de subtipo. Foram feitas biópsias de tecido em seis dos sete pacientes com LH e 19 dos 30 pacientes com LNH. A infiltração dos linfomas na medula óssea foi observada em cinco dos pacientes com LNH, todos do subtipo difuso de grandes células B. Exames complementares de imuno-histoquímica foram feitos em dois dos sete casos de LH e em 19 dos 30 casos de LNH. O protocolo quimioterápico empregado nos LH foi o ABVD (adriamicina, bleomicina, vimblastina, dacarbazina). Dos 30 LNH, nove pacientes receberam R-CHOP (rituximabe, vincristina, doxorubicina, ciclofosfamida, prednisona); um recebeu CHOP; quatro receberam CVP (ciclofosfamida, vincristina, prednisona); quatro receberam CVP mais rituximabe; e apenas dexametasona; um apenas rituximabe; os restantes receberam outras combinações de protocolos. O tempo entre o diagnóstico e o início do tratamento variou de um a seis meses (m = 2,3) para os LH; e de zero a oito meses (m = 1,8) para os LNH. **Conclusão:** Este trabalho inicial de nosso grupo possibilitou uma análise detalhada dos linfomas atendidos na rede pública de saúde de Sergipe. Espera-se que os dados levantados sirvam de base para estudos futuros que visem a estabelecer prioridades na prevenção, no planejamento e no gerenciamento dessas neoplasias nos serviços de saúde desse centro. **Palavras-chave:** Linfomas; epidemiologia; diagnóstico; tratamento.

408. ANEMIA EM LINFOMA NÃO HODGKIN? – PODE SER INFECÇÃO POR PARVOVÍRUS B 19!

Fonseca VMGT^a, Buccì KB^b, Sibillo LAP^a, Chan HF^b, Russo R^a, Santos RMD^a, Costa RO^a, Costa RO^b

^a Hospital Guilherme Álvaro, Santos, SP, Brasil

^b Faculdade de Ciências Médicas de Santos, Santos, SP, Brasil

Objetivo: Relatar caso de LNH de linfócitos B pequenos com diferenciação plasmocitária associado a aplasia pura de série vermelha (APSV) secundária a infecção por parvovírus B19 (PV B19). **Relato de caso:** Homem de 38

anos, história de adenomegalia cervical direita, sintomático B, procurou atendimento médico, no qual fez biópsia excisional de linfonodo axilar em dezembro de 2010, cujo AP associado a IHC foi compatível com LNH de linfócitos B pequenos com extensa diferenciação plasmocitária (IHC positividade para CD20+ e CD38+). A BMO mostrou infiltração de padrão intersticial, com morfologia compatível com linfócitos pequenos. Foi iniciado tratamento com protocolo R-CHOP. Após o quarto ciclo, apresentou remissão completa (RC) tomográfica da doença, mas evoluiu com queda importante da hemoglobina e reticulocitopenia (Hb 5 normocítica/normocrômica), com necessidade transfusional, improváveis de terem relação com a linfoproliferação, pela resposta encontrada em outros sítios inicialmente acometidos pelo LNH. Feito mielograma, que demonstrou pró-eritroblastos gigantes, alguns vacuolizados, e parada de maturação de série eritrocitária, compatível com o diagnóstico de APSV. Assim, foi feita pesquisa de parvovírus B19 por PCR em aspirado de medula óssea, que resultou positiva. Iniciado tratamento com imunoglobulina 400 mg/kg/dia por cinco dias, com melhoria importante da anemia e independência transfusional. Do LNH totalizaram-se oito ciclos de R-CHOP, com RC da doença (BMO de reestadiamento demonstrou ausência de infiltração linfomatosa). Tentada, após RC do LNH, suspensão da IGIV, com queda da Hb e reticulocitopenia, sem evidência de recidiva do LNH. Houve, assim, a necessidade de manutenção da infusão de imunoglobulina para manutenção da Hb. Em junho de 2001, o PAC apresentou recidiva ganglionar e medular do LNH indolente e encontra-se em QT com ICE e IGIV concomitante. **Discussão:** As infecções por PV B19 levam a diferentes manifestações clínicas, a depender do hospedeiro infectado. Em imunocompetentes podem ser assintomáticas, se manifestar por quadro *flu-like* ou rash cutâneo e artralgia. São conhecidas também como *fifth disease*, que causam eritema infeccioso em crianças, crise aplásica transitória em PACs com anemias hemolíticas crônicas, como anemia falciforme e esferocitose hereditária, artropatias, lise das células eritroides de fetos em gestantes (com hidropsia fetal e óbitos fetais) e APSV crônica em imunodeprimidos. Nesses, como nos tumores hematológicos, sólidos, transplantados, e em pacientes com imunodeficiências adquiridas (infecção pelo HIV) e congênitas, a infecção pelo PV B19 pode levar à anemia crônica com APSV e, menos frequentemente, à neutropenia, trombocitopenia e até mesmo pancitopenia. O achado típico em medula óssea é o de parada de maturação eritroide com pró-eritroblastos gigantes, por vezes vacuolizados. De forma interessante e prejudicando o diagnóstico etiológico, a maioria dos pacientes não apresenta o clássico rash cutâneo e artropatia, o que reflete o estado de imunodeficiência deles. **Conclusão:** Sabe-se que a infecção por PV B19 é prevalente em pacientes com doenças hematológicas e o diagnóstico precoce, com início do tratamento adequado baseado em IGIV, diminuiria os sintomas de anemia e necessidade transfusional desses pacientes e melhoraria significativamente a qualidade de vida e os eventuais riscos inerentes às transfusões.

409. LINFOMA MALT EM RETO: REMISSÃO COMPLETA APÓS QUIMIOTERAPIA R-CHOP

Filho JTDS, Azevedo LR, Machado EM, Andrade IB

Faculdade de Medicina de Campos (FMC), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Introdução: Os linfomas de tecido linfoide associado à mucosa (Malt) são linfomas não Hodgkin de células B que podem surgir em diversas áreas extranodais. São mais frequentes nos estômago. A apresentação primária em reto é particularmente rara e há poucos relatos de caso. Por sua raridade, não há consenso sobre a melhor forma de tratamento. **Objetivo:** Descrever um caso de linfoma Malt em reto, em uma paciente do sexo feminino, e a sua resposta ao tratamento quimioterápico. **Material e métodos:** Estudo descritivo na forma de relato de caso e revisão bibliográfica em bases de dados. **Relato de caso:** Mulher de 55 anos iniciou havia quatro anos quadro clínico de hematoquezia e tenesmo, associados a distensão e sensação de plenitude abdominal. Evoluiu com queixas de astenia e dor do tipo cólica de fraca intensidade em hipocôndrio esquerdo. Apresentava histórico de câncer de mama tratado cirurgicamente e com quimioterapia havia sete anos. Feitos exames de imagem e colonoscopia, cuja biópsia foi compatível com o diagnóstico de linfoma Malt de reto. A paciente recebeu tratamento quimioterápico com o protocolo R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona) e permaneceu em remissão completa após dois anos de acompanhamento. **Conclusão:** Tendo em vista a raridade da apresentação do linfoma Malt primário de reto e a ausência de consenso sobre o tratamento ideal, observou-se que o tratamento quimioterápico com o protocolo R-CHOP possibilita atingir remissão completa de forma eficaz e segura.

410. MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM DE APRESENTAÇÃO ATÍPICA: DESAFIO DIAGNÓSTICO

Barbosa MS, Saraiva G, Alves CFM, Silva BO, Carvalho AB, Amaral CAD, Tavares RS, Farias DLC

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: A macroglobulinemia de Waldenström (MW) é definida como a presença de proteína monoclonal IgM associada a infiltração medular em paciente com linfoma linfoplasmacítico. É mais prevalente em idosos e associa-se a sintomas como fadiga, emagrecimento, sangramento de mucosas, linfonodomegalias, hepato ou esplenomegalia, hiperviscosidade sanguínea e, por vezes, neuropatia e retinopatia. Caracteriza-se por pico monoclonal na região das gamaglobulinas, níveis elevados de IgM e infiltração difusa da medula óssea (MO) por linfócitos pequenos e quantidade variável de linfócitos plasmocitoides e plasmócitos. O imunofenótipo dos LB patológicos demonstra antígenos associados às células B (CD19+, CD20+, CD22+ e CD24+) e ausência de CD5 e CD10. Os plasmócitos patológicos apresentam CD138+. **Objetivo:** Relatar o caso de paciente portador de MW com difícil diagnóstico diferencial. **Material e métodos:** Revisão do prontuário e pesquisa bibliográfica nas bases de dados MEDLINE, LILACS, SciELO e PubMed. **Relato de caso:** Paciente J.P.R., 65 anos, foi encaminhado ao Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC-UFG) para investigação de pancitopenia descoberta durante tratamento de toxoplasmose aguda e pneumonia em dezembro de 2011. Era portador de HAS e apresentava hemiparesia direita como sequela de AVE prévio. Após recuperação do processo agudo, perdeu o seguimento no serviço por seis meses. Ao retornar, estava assintomático, mas persistia com pancitopenia, estava descorado (1/4+) ao exame físico, sem outras alterações. Os exames feitos não demonstraram alterações, somente deficiência importante de vitamina B12 e macrocitose. Recebeu reposição da vitamina por via parenteral sem melhoria do hemograma. Procedeu-se à avaliação da MO, que revelou hiperplasia importante (90%) por infiltrado linfoplasmocitário intersticial e difuso composto por pequenas células (70% da celularidade). A imunofenotipagem demonstrou que tais células eram linfócitos B maduros clonais (κ +/ λ -) com CD19+, CD5-, CD23-, compatíveis com escore 1 de Matutes. Imuno-histoquímica mostrou padrão semelhante, com sinais de diferenciação plasmocítica (CD138+), BCL2 positivo e negatividade para BCL6 e ciclina D1, com diagnóstico de infiltração de MO por LNH linfoplasmacítico. O paciente não apresentava hiperviscosidade, coagulopatias, neuropatia ou alterações nas tomografias de corpo inteiro. Detectou-se pico monoclonal na região das gamaglobulinas de 2,68 g/dL e aumento de IgM (2.928 ng/dL). Foi feito o diagnóstico de macroglobulinemia de Waldenström. Iniciou-se o esquema RCD (rituximab, ciclofosfamida e dexametasona), por seis ciclos, com normalização do hemograma e redução progressiva da proteína IgM. **Discussão:** A investigação da pancitopenia foi dificultada, em duas ocasiões distintas, por confundidores, como infecção aguda e carência de vitamina B12. A doença de base provavelmente relacionou-se aos dois eventos, respectivamente, pela imunossupressão e pelo aumento da necessidade basal de B12. Após o diagnóstico, a indicação de tratamento baseou-se nas citopenias graves. A resposta ao tratamento foi adequada. **Conclusão:** A particularidade do caso consiste na pancitopenia persistente, de difícil diagnóstico, que demandou diversas investigações até a conclusão final, de que era causada por uma doença linfoproliferativa crônica rara, a macroglobulinemia de Waldenström.

411. LINFOMA DE GRANDES CÉLULAS B ANAPLÁSICO ALK-NEGATIVO – RELATO DE CASO

Sousa RD, Almeida NDF, Resende MMM, Moura MC, Pinto SA

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: O linfoma de grandes células B anaplásico é um subtipo de neoplasia linfoide difusa de grandes células B que apresenta núcleo pleomórfico, citoplasma abundante, núcleo com tamanho igual ou maior do que um macrófago e expressão de CD30. O sítio de apresentação pode ser nodal ou extranodal. O primeiro é mais comum. No acometimento extranodal, 40% dos casos se iniciam no estômago, podem atingir também a medula óssea (MO) ou envolver qualquer sítio do corpo. Entre os subtipos há uma entidade rara, 2-3% dos linfomas não Hodgkin, o linfoma de grandes células B anaplásico ALK-negativo (ALCL-ALK-). Geralmente se apresentam com sintomas B. Seu diagnóstico é feito no estágio III-IV. Sua incidência está presente em adultos entre 55 e 60 anos, a propagação ex-

tranodal é menos comum (20%) e os níveis séricos de desidrogenase de lactato estão elevados. Na imuno-histoquímica (IHQ), além do CD30, o PAX5 é útil para o diagnóstico final. O tratamento é feito com quimioterápicos. O CHOP é a melhor escolha para o tratamento de linfomas sistêmicos. **Objetivo:** Discutir uma neoplasia hematolinfóide associada aos tecidos extranodais da mucosa gástrica por causa de sua infrequência epidemiológica e da dificuldade diagnóstica por assemelhar-se ao carcinoma, ao melanoma e ao sarcoma. **Material e métodos:** Acompanhamento hospitalar do paciente, revisão do prontuário e pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed, LILACS, SciELO e MEDLINE. **Relato de caso:** Paciente feminino, 69 anos, apresentou quadro de desconforto e dor epigástrica seguido de emagrecimento. Endoscopia digestiva alta evidenciou mucosa espessada com pequena úlcera antral em parede posterior de fundo sujo com apagamento da mucosa marginal. Feita a biópsia endoscópica, o histopatológico revelou tratar de uma neoplasia maligna pouco diferenciada e foi solicitado o estudo IHQ para definição de histogênese e do comportamento biológico da lesão. Com estudo IHQ foi diagnosticado ALCL-ALK-. No estadiamento clínico não foi encontrada lesão em atividade além do estômago e a biópsia de MO estava livre de comprometimento neoplásico. A paciente encontra-se em quimioterapia. **Discussão:** Nos casos de neoplasias malignas indiferenciadas de grandes células, tem-se a possibilidade dos seguintes diagnósticos diferenciais: adenocarcinoma, linfoma de grandes células B ou T, melanoma, tumores do trato gastrointestinal e sarcomas, entre outros. Sendo assim, para definição diagnóstica foi necessário o estudo IHQ, que definiu o diagnóstico final de ALCL-ALK-, por causa da expressão dos marcadores CD30, CD20 e PAX5 positivos, CD3 e ALK negativo. O marcador CD30 se expressa em linfomas de grandes células, CD20 em neoplasias de células B e o PAX5 nunca estará com uma expressão fraca no ALCL-ALK-. Associado a IHQ, o paciente se enquadrou na faixa etária da doença e apresentou um dos sintomas B, o emagrecimento. No tratamento com quimioterápicos, a dextrorubicina se mostrou sensível à doença, porém com frequentes recaídas. O regime alemtumab-CHOP é usado com excelente taxa de remissão, porém com alta toxicidade. **Conclusão:** A discussão de um caso, que apresenta epidemiologia pouco frequente e definida na IHQ, é importante no meio acadêmico e hematológico, por causa das suas características clínicas e morfológicas inespecíficas e sua grande quantidade de diagnósticos diferenciais.

412. ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE POR ANTICORPO IGM EM PACIENTE COM LINFOPROLIFERAÇÃO DE CÉLULAS T

Cabral TCDS, Colturato I, Yamakawa PE, Szork RS, Medina AB, Abdo ANR, Sampaio LR, Pereira J

Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Anemia hemolítica autoimune (AHA) é uma causa de anemia hiperproliferativa, com incidência de 0,8%/ano. Mais de 50% dos casos de AHA são de etiologia secundária. Malignidades e doenças imunológicas são as principais. Diferenciar a etiologia é importante, pois orienta tratamento e define o prognóstico. Os autoanticorpos implicados na AHA são das classes IgM (13%) e IgG (87%). O primeiro reage com antígenos polissacarídeos da superfície eritrocítica em temperaturas abaixo da temperatura corpórea central (anticorpo frio). Já o segundo reage com antígenos proteicos de superfície eritrocitária em temperatura corpórea (anticorpo quente). AHA por anticorpo frio (AHAIF) é causada por anticorpos da classe IgM, geralmente monoclonal, e pode causar hemólise intra e extravascular. O grau de hemólise depende de fatores como a amplitude térmica e a carga sérica de autoanticorpos, embora esse último seja controverso. AHAIF tem sintomas de anemia, geralmente não grave, e de sensibilidade a temperaturas mais frias, como acrocianose. Presença de linfonodomegalia e visceromegalia sugerem etiologia secundária. O diagnóstico da AHA se faz pelo teste de antiglobulina direta (TAD), que, na AHAIF, é positivo apenas para C3d. **Relato de caso:** Paciente masculino, 63 anos, previamente hígido, que iniciara havia três meses sintomas B, linfonodomegalia generalizada e sintomas anêmicos. Internado para investigação, foi evidenciada anemia hemolítica, que atingiu Hb 2,5 g/dL, sem outras citopenias. TAD com presença de IgG, C3d e IgM, com titulação polissacarídica (IgG e C3d) forte e monoespecífica (IgG) fraca. Na reação com eluato, não houve aglutinação, exceto no autocontrole, que descartou a especificidade da IgG contra antígenos eritrocitários. A pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) resultou positiva em temperatura ambiente e após incubação a 37°C e evidenciou autoaglutinina indeterminada

da reativa até 37°C. Foi feito então diagnóstico de AHA por anticorpo frio (IgM). Eletroforese de proteínas apresentou padrão policlonal e imunofixação sérica resultou negativa. Tomografia computadorizada evidenciou múltiplas linfonodomegalias generalizadas e hepatoesplenomegalia e sugeriu tratar-se de doença linfoproliferativa. Aspirado de medula óssea foi hiperclonal à custa da série eritrocítica. Biópsia de linfonodo cervical foi compatível com linfoma de alto grau CD3+, CD2+, CD5+, CD20-, CD10-, CD138-, MUM1-, sugestivo de linfoma não Hodgkin de células T sem classificação. Iniciada prednisona 1 mg/kg/dia, sem melhoria; optou-se por pulsoterapia com metilprednisona 1 g/dia por três dias. Pela ausência de resposta, foi iniciada quimioterapia com protocolo R-CHOP. Suporte transfusional com concentrado de hemácias filtrado, irradiado, fenotipado e aliquotado, com infusão lenta para redução de hemólise, pela não disponibilidade no serviço de material apropriado para aquecimento da bolsa. A AHA grave por anticorpo IgM frio policlonal em paciente com linfoproliferação maligna de células T é evento isolado e de pequena incidência, ainda mais raro quando associado. A gravidade da doença de base e o seu prognóstico reservado criam a necessidade de diagnóstico rápido com abordagem terapêutica precoce, embora refratariedade seja comum. **Conclusão:** São necessários mais estudos que abordem especificamente tratamento de AHA em linfoproliferação de células T para definição de melhor estratégia.

413. PERFIL DE PACIENTES COM MICOSE FUNGOIDE EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Paiva VMD, Mendes PHM, Gomes CL, Murakami CL, Souza LGGT, Takano CYY, Avó HS, Sales GM, Silva JBCB

Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Linfoma cutâneo de células T é caracterizado pela malignização das células T epidermotrópicas pela alteração em seu processo de apoptose. Tem diversas classificações, entre elas a micose fungoide (MF), que se caracteriza pela presença de placas eritematosas que evoluem para lesões ulceradas, tumores em toda a pele ou ainda estágios avançados de infiltração de medula óssea. Apesar de ser o tipo mais comum de linfoma cutâneo de células T, a MF é uma doença rara, com incidência de 0,5 caso por 100.000 pessoas por ano. Há predominância de pacientes entre 55 e 60 anos, é mais comum no sexo masculino (1,6-2 homens:1 mulher) e rara na infância e em adultos jovens. O prognóstico da MF baseia-se no estadiamento, principalmente levando-se em conta a extensão e o tipo de envolvimento na pele e a presença, ou não, de doença extracutânea. **Objetivo:** Comparar os casos novos de MF do nosso serviço com a literatura. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo de pacientes com diagnóstico de MF confirmada por biópsia da lesão de pele atendidos em hospital universitário de Campinas entre julho de 2011 e julho de 2013. Foi feita análise comparativa dos resultados dos exames anatomopatológicos e de dados do prontuário desses pacientes com a literatura. **Resultados:** Foram registrados no serviço de anatomia patológica sete casos novos de MF no período acima, quatro (57%) eram do sexo masculino e três (43%) do feminino. A média de idade foi de 48 anos e a mediana foi de 47. Em todos os casos, foi feita imuno-histoquímica no material de biópsia de pele. Os marcadores positivos foram: CD3 (em 100%), CD5 (em 71%), CD7 (em 43%) e CD4 (em 14%). Quanto aos índices de prognóstico, tinham desidrogenase láctica (DHL) normal 100% dos pacientes e beta 2 microglobulina normal 71%. Todos apresentavam hemograma normal ao diagnóstico e em nenhum deles foi detectada doença extracutânea. Durante a evolução, todos foram tratados com fototerapia e apenas um não permanece até hoje sob essa modalidade terapêutica. Tal paciente perdeu seguimento no serviço. **Discussão:** Em relação a aspectos epidemiológicos, nossa casuística mostrou prevalência pelo sexo masculino, dado que está de acordo com a literatura. A média de idade foi menor do que a encontrada por outros autores, que apontam incidência acima dos 50 anos. Quanto à imuno-histoquímica, os marcadores de células T se mostram bons para a pesquisa de MF, principalmente o CD3, presente em todos os casos. Marcadores mais específicos, como CD8 e CD4, não se mostraram prevalentes. Sobre os aspectos clínicos, não houve disseminação sistêmica da doença em nenhum caso; a literatura mostra que tal disseminação não acontece em estágios iniciais da doença, mas se torna relativamente comum em estágio tumoral avançado. A fototerapia tem sido considerada eficaz no tratamento da MF e é indicada para essa patologia. No presente estudo, houve aderência importante ao tratamento, apenas

um indivíduo não continuou o seguimento. **Conclusão:** MF é doença linfoproliferativa rara e indolente. É importante o diagnóstico precoce, em estágios iniciais, para que haja melhor controle da patologia com o tratamento tóxico. São necessários futuros trabalhos para melhor avaliar resposta, a adesão e o seguimento dos indivíduos acometidos.

414. CLONAGEM E EXPRESSÃO DE ANTICORPO MONOCLONAL ANTI-CD20 RECOMBINANTE: PRIMEIROS PASSOS PARA DESENVOLVIMENTO DE NOVOS ANTICORPOS TERAPÊUTICOS CONTRA O CÂNCER

Lisboa VC, Santos EA, Teixeira MGM, Vianna COA, Almeida-Oliveira A

Laboratório de Tecnologia Recombinante, Programa de Biofármacos, Vice-Diretoria de Desenvolvimento Tecnológico, Bio-Manguinhos, Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: O linfoma não Hodgking (LNH) é uma neoplasia maligna que acomete os linfócitos B. É a segunda doença hematológica maligna mais frequente. Entre todas as neoplasias no Brasil é a décima primeira e, segundo o Instituto Nacional de Câncer, existe a estimativa de 9.079 casos para 2014. Além da quimioterapia convencional, anticorpos monoclonais como tratamento contra o câncer vêm sendo amplamente empregados. Em 1997, a Food and Drug Administration (FDA), dos Estados Unidos, aprovou o primeiro medicamento composto por anticorpo monoclonal para o tratamento de LNH, o Rituximab (Mabthera), que revolucionou a terapia dessa doença. O alvo molecular é a proteína CD20, que é expressa na membrana plasmática de quase todas as células B, inclusive linfócitos B tumorais. Atualmente, por conta do fim da vigência da patente do Rituximab, novos anticorpos anti-CD20 estão sendo desenvolvidos com o intuito de melhorar a eficácia terapêutica desse biofármaco. **Objetivo:** Fazer clonagem e expressão das seqüências de cadeia leve e pesada do Rituximab, a partir da seqüência adquirida comercialmente, a fim de padronizar metodologia para posteriores ensaios com uma nova molécula produzida a partir do Rituximab. **Material e métodos:** A seqüência do Rituximab foi obtida a partir da descrita na patente. Os genes do anticorpo foram sintetizados e clonados nos plasmídeos pIDTSmart (cadeia leve) e pUCIDT (cadeia pesada). Após digestão enzimática sítio específica, os insertos foram subclonados no plasmídeo comercial pCDNA3, específico para expressão em células de mamíferos. Foi feito um sequenciamento nucleotídico para confirmação das seqüências gênicas. Para transfeção transitória em células da linhagem HEK 293T usou-se o método FuGene (Roche). A primeira análise do sobrenadante da cultura de células foi feita pelo teste imunoenzimático Elisa. **Resultados:** As digestões enzimáticas revelaram que os insertos correspondentes à seqüência do Rituximab apresentavam o tamanho esperado (1.400pb para a cadeia pesada e 726pb para a cadeia leve) quando comparados ao padrão de peso molecular. O sequenciamento nucleotídico confirmou a seqüência gênica dos insertos. A análise do sobrenadante pelo método de Elisa das culturas de HEK 293T transfectadas, revelou uma concentração de aproximadamente 10 ng/mL de anticorpo recombinante. **Conclusão:** Os resultados apresentados mostraram a expressão da proteína recombinante apresentando os domínios de Fc e Fab. As metodologias usadas serão uma ferramenta útil para o desenvolvimento de novos anticorpos monoclonais contra o câncer a partir do Rituximab. **Apoio financeiro:** Programa de Apoio à Pesquisa Estratégica em Saúde (Papes)/ Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

415. MIASTENIA GRAVIS COMO APRESENTAÇÃO INICIAL DE PACIENTE COM LINFOMA LINFOBLÁSTICO T – RELATO DE CASO

Soares TB, Catelli D, Daudt L, Weber CS, Burin MM, Paiva MF, Contin LCZ, Spindler BM, Sarturi BF

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: Os tumores primários de mediastino, em cerca de 70% dos casos, são sintomáticos na sua apresentação inicial e desses 11% podem abrir quadro com sinais e sintomas de miastenia gravis. A miastenia gravis é uma desordem neuromuscular autoimune mediada por linfócitos B que causa fraqueza na musculatura esquelética. Dos pacientes com miastenia gravis, 15% têm timoma. A associação de linfo-

ma linfoblástico T com miastenia gravis é menos comum e já foi descrita em alguns poucos relatos. **Material e métodos:** Paciente masculino, 36 anos, pardo, previamente hígido, inicia em janeiro de 2014 com quadro de disfagia, disфония, ptose palpebral, fraqueza da musculatura mastigatória, diplopia e parestesia de musculatura cervical com sintomas piores ao fim do dia. Procurou neurologista que indicou eletroneuromiografia (15/02/2014): achados compatíveis com miastenia gravis. Iniciou uso de piridostigmina. **Resultados:** Para avaliação, fez TC de tórax (09/03/2014): lesão expansiva no mediastino anterior, com contornos levemente lobulados, que media 5 x 3,5 cm em seus maiores diâmetros transversos e apresentava continuidade com as superfícies pleurais mediais, o pericárdio, a porção anterior da aorta ascendente e a superfície posterior do esterno, compatível com a suspeita clínica de timoma. É submetido a timectomia em 09/04/2014. Biópsia de timo mostra linfoma linfoblástico T. As tomografias de abdome em maio/2014. Apresentou resolução do quadro neurológico após timectomia e início da quimioterapia. **Conclusão:** A miastenia gravis é mais vista com tumores primários outros de mediastino, como timoma ou linfoma de Hodgkin. A associação de linfoma linfoblástico T e miastenia gravis é incomum.

416. SÉRIE DE CASOS: LINFOMA DE BURKITT COM MASSA BULKY AXILAR

Bruno LF, Gonzaga YBM, Bergier LL, Correa CN, Barreto LS, Dobbin JA

Instituto Nacional do Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: O linfoma de Burkitt é um tipo de linfoma não Hodgkin de alto grau originado de células B do centro germinativo e caracterizado por proliferação celular altamente acelerada. Por essa razão, é frequente sua apresentação com níveis elevados de desidrogenase láctica e de ácido úrico e, principalmente, com volumosos aglomerados linfocitais, conhecidos como massas tipo **bulky**, cujo sítio principal costuma variar de acordo com cada uma das três variantes clínicas típicas da doença. A forma endêmica, que representa a neoplasia infantil mais comum na África equatorial, caracteriza-se por **bulky** facial (mandibular) e acometimento renal, além de ter forte associação com a infecção pelo vírus Epstein-Barr. Já as formas esporádica, predominante no continente americano e na Europa ocidental, e a associada a imunodeficiências tendem a apresentar doença intra-abdominal extensa. No contexto dessa última variante, observa-se com frequência a associação com HIV, normalmente com níveis de linfócitos T CD4+ acima de 200 células/mL. É mais comum o acometimento do sistema nervoso central e da medula óssea nessa apresentação clínica. A presença de massa tipo **bulky** em região axilar não é tipicamente associada a nenhuma dessas três variantes, nem descrita como característica marcante no linfoma de Burkitt. Não é, portanto, comumente abordada nos trabalhos científicos disponíveis na literatura do nosso meio. **Resultados:** Do total de pacientes diagnosticados com linfoma de Burkitt e matriculados no Serviço de Hematologia do Inca, nos últimos cinco anos (n = 61), mais de 10% (n = 7) apresentavam **bulky** axilar ao diagnóstico, com destaque para os seguintes fatos: todos eram adultos (entre 34 e 52 anos) e soropositivos para HIV; cinco deles faleceram em até seis meses do início da quimioterapia, independentemente dos seus níveis basais de linfócitos T CD4+ e do esquema terapêutico escolhido, o que representa uma mortalidade superior àquela relatada na literatura, assim como àquela apresentada, em média, pelos outros 54 pacientes. Observou-se, também, que nenhum desses sete portadores de **bulky** axilar apresentava doença em estágios iniciais (estágios I ou II) ou classificada como de baixo risco. Além disso, não foram identificadas diferenças nos perfis imuno-histoquímicos descritos nos laudos histopatológicos das lesões biopsiadas para diagnóstico. Os dois sobreviventes encontram-se, atualmente, em acompanhamento hematológico regular e sob terapia antirretroviral, um em remissão completa há dois anos e o outro em remissão parcial há cinco meses. **Conclusão:** Este estudo demonstra a importância e a necessidade de ampliação dos conhecimentos sobre a associação de **bulky** axilar com HIV e com mortalidade aumentada, no contexto do linfoma de Burkitt, uma vez que essa apresentação representou um aspecto clínico específico observado com frequência considerável e comportamento patológico marcante na população em questão.

417. ANÁLISE DA SIGNIFICÂNCIA DAS MUTAÇÕES JAK2 NA OCORRÊNCIA DE EVENTOS TROMBÓTICOS, EM PACIENTES PORTADORES DE TROMBOCITEMIA ESSENCIAL

Baroni JH, Matushita CM, Guiguer IC, Mauad VAQ, Silva SS, Guerra AB, Oliveira VH, Navarro LM, Borducchi DMM

Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

Introdução: A trombocitemia essencial (TE) consiste em uma desordem clonal de células progenitoras, caracterizada pelo aumento da produção de plaquetas. Ela é considerada, junto com a leucemia mieloide crônica (LMC), a policemia vera (PV) e a mielofibrose idiopática (MI), uma doença mieloproliferativa crônica. Ao contrário do que ocorria na LMC, muitos pacientes não apresentavam a translocação t(9;22) ou a proteína subsequente BCR-Abl. Isso também podia ser observado na MI e PV[i]. Em 2005, vários estudos apontaram, nesse grupo, uma mutação circunscricional no exon 14 no gene Janus Kinase 2 (JAK2), denominada JAK2 V617F[ii], recorrente nesse grupo, bem como na PV e MI. **Objetivo:** Dar continuidade ao trabalho apresentado pelo mesmo grupo há um ano e explorar melhor o impacto dessa mutação no prognóstico e na evolução desses pacientes. No trabalho apresentado em 2013, puderam-se observar níveis plaquetários menores nos pacientes portadores da mutação JAK2 V617F, bem como controle efetivo dos níveis com quantidades menores de medicamento, quando comparados com o grupo onde essa mutação não se apresentava. Neste estudo, visamos a completar essa avaliação, à luz do descoberto anteriormente, a fim de descobrir se a presença dessa mutação afeta a ocorrência de episódios trombóticos nesse grupo de pacientes. **Material e métodos:** Foram reabordados os pacientes do estudo anterior, sendo seus dados atualizados, e novos pacientes acrescidos (n = 60), em tratamento nos ambulatórios da Faculdade de Medicina do ABC, Hospital Estadual Mario Covas e clínicas particulares da região. Os dados foram analisados em tabelas de contingência que relacionou a presença da mutação à ocorrência de eventos trombóticos. Foi usada a técnica do *Odds Ratio*, com cálculo dos respectivos intervalos de confiança. **Resultados:** Foram avaliados 24 homens e 36 mulheres, com média de idade de 64,5 anos, DP 24,36 anos, mediana 68,3 anos. Desses, apenas 44 tinham pesquisa da mutação JAK2 e foram analisados para o objetivo deste estudo. Observou-se: mesma probabilidade de evento trombótico e presença da mutação JAK2 V617F entre os sexos (OR 1,20 IC95% 0,31-4,67 e OR 0,57 IC95% 0,19-1,73, respectivamente). Sem associação significativa entre a mutação JAK2 e os eventos trombóticos (OR 1,68 IC95% 0,39-7,17).

Referências:

1. McLornan D, Percy M, McMullin MF. JAK2 V617F: a single mutation in the myeloproliferative group of disorders. *Ulster Med J.* May. 2006;75(2):112-9.
2. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell.* 2005;7(4):387-97.

418. AVALIAÇÃO DO PERFIL DOS PORTADORES DE LINFOMA DA ZONA MARGINAL EXTRALINFONODAL DE UMA ÚNICA INSTITUIÇÃO BRASILEIRA

Aguiar CN, Pereira J, Lage LAC, Falcão GM

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Os linfomas não Hodgkin compreendem um grupo heterogêneo de neoplasias malignas linfocitárias cuja incidência vem aumentando nas últimas décadas. Nesse espectro diverso de doença, o envolvimento extralinfonodal é bastante frequente e corresponde a 40% dos casos. O trato gastrointestinal (TGI) é o local mais comum. Os linfomas de zona marginal compreendem 7-8% dos linfomas de células B e correspondem a 50% dos linfomas primários gástricos. Apresentam curso clínico indolente e disseminação lenta. A maioria dos pacientes tem idade média de 60 anos e há predominância do sexo feminino. O linfoma MALT extralinfonodal difere da apresentação linfonodal e do esplênico por acometer órgãos que geralmente não têm tecido linfoide, como pulmão, estômago, glândulas salivares, mas que tem acúmulo de células B em resposta a infecções crônicas ou processos autoimune. A recidiva pode ocorrer após diversos anos, com envolvimento de sítios extranodais. Alguns casos podem sofrer transformação para linfoma difuso de grandes células B. **Objetivo:** Estudo retrospectivo que incluiu todos os pacientes com diag-

nóstico de linfoma de zona marginal extralinfonodal e esplênico atendidos pela disciplina de hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo entre 1992 e 2012. **Material e métodos:** Foram avaliados sexo, idade ao diagnóstico, presença de sintomas B, órgão de acometimento primário, invasão de medula óssea, estadiamento e sobrevida global. Foram avaliados 89 pacientes portadores de LZM extralinfonodal, 49 do sexo feminino (55%). A mediana de idade ao diagnóstico foi de 57 anos (21-91). **Resultados:** Entre os sítios de acometimento, 31,4% dos casos corresponderam a linfoma esplênico, 15,7% a linfoma pulmonar, 30,3% a linfoma gástrico e 22,4% de órbita. Na avaliação de estadiamento, 59% dos casos eram estágio I de Ann Arbor, seguido por 34% estágio IV e 6% estágio II. Sintomas B estiveram presentes em 31% dos casos e infiltração da medula óssea em 24,6%. 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 sobrevida global em cinco anos foi de 80%, com variação entre 90% para o subtipo gástrico e 70% para o subtipo pulmonar. **Conclusão:** Acreditamos que a alta prevalência de infecções por *H. pylori* na população brasileira seja um fator preponderante para o surgimento dessas lesões neoplásicas secundárias. Apesar de serem doenças de bom prognóstico, os de envolvimento pulmonar têm menor sobrevida global do que os de outros sítios extranodais. Talvez pelo comprometimento grave de um órgão vital, como o pulmão, que pode resultar em uma apresentação clínica mais grave e alterações fibrosantes pós-tratamento que, por sua vez, podem resultar em dano sequelar que comprometa a qualidade de vida dos doentes e ocasione maior morbimortalidade.

419. DOENÇA LINFOPROLIFERATIVA PÓS-TRANSPLANTE MONOMÓRFICA DO TIPO LINFOMA DE BURKITT

Mattos VRP, Helman R, Hamerschlag N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Doença linfoproliferativa pós-transplante (PTLD) consiste em um amplo grupo de desordens que variam de proliferações linfoides atípicas até linfomas malignos, como resultado direto da imunossupressão pós-transplante. A maioria das PTLDs monomórficas é composta de células B transformadas que preenchem critério para linfoma não Hodgkin e em raros pacientes podem se apresentar com fenótipo de linfoma de Burkitt (LB). **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente com PTLD monomórfica tipo LB pós-transplante cardíaco, com importante carga tumoral e envolvimento extranodal. **Relato de caso:** Homem, 54 anos, com diagnóstico de miocardiopatia dilatada idiopática, submetido a transplante cardíaco em 2010, em imunossupressão com tacrolimus e micofenolato de mofetila. Em agosto de 2013 foi internado, evoluiu em uma semana com febre, cefaleia e dor em face. O exame físico não evidenciava alterações e os exames laboratoriais foram normais. Tomografia computadorizada apresentava espessamento do revestimento mucoso dos seios esfenoidais e do maxilar esquerdo. Foi inicialmente tratado com antibióticos, sem melhoria. A ressonância magnética de crânio evidenciou espessamento do revestimento do seio esfenoidal com ruptura da cortical óssea e de sua parede posterior com extensão ao clivus. A biópsia da lesão esfenoidal demonstrou proliferação monótona de células linfoides neoplásicas de núcleos de médio tamanho, cromatina heterogênea, nucléolos evidentes e escasso citoplasma, que à imuno-histoquímica tinham marcação positiva para CD10, CD20, BCL-6 e MYC, com Ki-67 de 99%. A pesquisa do vírus Epstein-Barr (EBV) por hibridização *in situ* resultou positiva. O mielograma apresentou 25,6% de blastos linfoides, com imunofenotipagem positiva para CD10, CD20, CD22, CD38, FMC-7, HLA-DR, IgM e lambda e estudo citogenético com presença de translocação (8;22)(q24.1;q11.2). A pesquisa de células neoplásicas no líquido cefalorraquidiano também resultou positiva (4% de blastos). PET-CT apresentou lesões que acometiam vários ossos do corpo, lobos hepáticos, corpo pancreático, hilo esplênico e cortical de ambos os rins. Recebeu diagnóstico de PTLD monomórfica do tipo linfoma de Burkitt, estadiamento IVB. Foi tratado inicialmente com esquema R-Hyper-CVAD, redução da imunossupressão e quimioterapia intratecal e obteve remissão completa após o primeiro ciclo. No segundo ciclo apresentou sinais de comprometimento de sistema nervoso central, com alterações de personalidade, inversão do ciclo sono-vigília, delirium e rebaixamento do nível de consciência, secundários à quimioterapia com citarabina. Optou-se por trocar o esquema terapêutico para R-DA-EPOCH. Recebeu quatro ciclos do novo esquema, manteve quimioterapia intratecal no primeiro dia de cada ciclo e permaneceu em remissão completa, com seguimento de quatro meses

pós-término de tratamento. **Discussão:** PTLD tipo LB tem um comportamento agressivo, tende a envolver sítios extranodais e o sistema nervoso central com maior frequência do que a encontrada em pacientes imunocompetentes. Mais de 70% desses casos têm expressão de EBV e a média de tempo entre o transplante e o aparecimento dos sintomas tende a ser maior do que a de outros tipos de PTLD. A redução da imunossupressão permanece a primeira linha de tratamento e taxas de até 95% de remissão podem ser atingidas com a combinação de quimioterapia associada ao anticorpo monoclonal anti-CD20.

420. LINFOMA DE CÉLULA DO MANTO PALPEBRAL – REVISÃO DA LITERATURA E RELATO DE CASO

Matshita CM^a, Amaro NS^{a,b}, Vieira FC^{a,b}, Borducchi JHM^a, Borducchi DMM^{a,b}, Baroni JH^a, Guiguer IC^a

^a Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil
^b Hospital Estadual Mario Covas, Santo André, SP, Brasil

Introdução: As lesões linfoides orbitais representam 10% de todos os tumores orbitais primários. É estimado que 8% dos LNH acometem anexos oculares. A maioria dessas lesões é de LNH de células B da zona marginal, difusos de grandes células B e linfomas foliculares. Subtipos menos comuns incluem linfoplasmocítico, linfoma de zona do manto, plasmocitoma e linfoma imunoblástico, em frequência decrescente. O linfoma da zona do manto compreende aproximadamente 3-10% dos LNH e acomete mais comumente linfonodos e medula óssea, com ou sem envolvimento do sangue periférico. Lesões extranodais podem ser observadas, mas principalmente em sua forma polipoide em trato gastrointestinal. **Objetivo:** Descrever um caso raro de LNH de imunofenótipo B de células do manto palpebral em paciente atendido no ambulatório de Hematologia do Hospital Estadual Mario Covas (HEMC). **Relato de caso:** Paciente masculino de 79 anos com queixa de sensação de areia em ambas as pálpebras. Evoluiu com aumento gradual e contínuo do volume das pálpebras, associado a dor e lacrimejamento. No momento em que chegou ao ambulatório, havia perdido a acuidade visual. A biópsia de pálpebra esquerda indicou hiperplasia linfoide atípica e a imuno-histoquímica mostrou ser um linfoma não Hodgkin de imunofenótipo B classificado morfológicamente como linfoma maligno de células do manto, negativo para CD3, CD5 e CD10 e positivo para CD20, BCL-2, ciclina D1 e Ki67 30%. A tomografia computadorizada mostrou comprometimento de pulmões e de baço e o laudo da biópsia de medula óssea concluiu infiltração linfocítica difusa com celularidade de 70%. Paciente foi submetido a seis ciclos de R-CHOP. **Discussão:** Na região ocular, outras entidades patológicas mais comumente observadas, como o pseudotumor inflamatório e a hiperplasia linfoide reacional, tornam o diagnóstico dos linfomas orbitais mais tardios, apesar de a descrição anatomopatológica e o estudo imuno-histoquímico serem suficientes para sua definição. O acometimento bilateral, persistente e em pacientes mais idosos, chama a atenção para necessidade de biópsia. A mediana de sobrevida dos pacientes com LZM é de 3-5 anos, envolve tratamentos agressivos, mas a vasta maioria deles não será curada. **Conclusão:** Neste caso, escolhemos o R-CHOP pela idade avançada do paciente e obtivemos excelente resposta. No entanto, o acompanhamento de perto se faz necessário, pelo alto risco de recaída da doença.

421. RITUXIMAB COM LENALIDOMIDA EM PACIENTES COM LINFOMA NÃO HODGKIN DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B (LNH DGCB) REFRATÁRIO: EXPERIÊNCIA COM TRÊS PACIENTES NÃO CANDIDATOS A TRANSPLANTE AUTÓLOGO

Perini GF, Gusmao BM, Santos FPS, Helman R, Esteves I, Junior CGC, Feitoza AAR, Hypollito JE, Nascimento CMBD, Kerbauy FR, Hamerschlak N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Apesar dos recentes avanços com a incorporação do Rituximab no tratamento de pacientes com LNH DGCB, cerca de 30-40% dos pacientes se tornarão refratários ou recaídos. Para esses pacientes, esquemas de resgate associados a terapias de altas doses e transplante autólogo permanecem como terapia de escolha. Porém, a toxicidade dessa abordagem é proibitiva em alguns casos. Para esses pacientes, ainda não existe consenso sobre a melhor terapia. **Objetivo, material e métodos:** Reportamos o caso de três pacientes com diagnóstico de LNH DGCB recaído ou refratário, não candidatos a TCTH autólogo, que foram trata-

dos com Rituximab com Lenalidomida. A dose inicial do Rituximab foi de 375 mg/m² a cada 28 dias, e da Lenalidomida foi de 25 mg ao dia, por 21 dias. Modificações da dose foram feitas conforme toxicidade hematológica. **Resultados:** Paciente 1, 89 anos, com LNH DGCB tipo não GCB, EC IVB, refratário à primeira linha com R-CHOP. Por causa da idade, contra-indicado resgate com altas doses de quimioterapia. Iniciado r-lenalidomida posteriormente. O paciente evoluiu com resposta completa. Toxicidade hematológica grau 3 (plaquetopenia). Foi necessário ajuste de dose. Atualmente, vivo e sem evidências de doença. Paciente 2, 77 anos, com LNH DGCB tipo GCB, EC IVB, tratado previamente com 6 x R-CHOP, com resposta completa por nove meses. Na recaída, foi tratado com 5 x R-GEMOX e manteve a doença em atividade. Iniciado R-lenalidomida, evoluiu com resposta completa. Também por toxicidade hematológica, foi necessário ajuste de doses. Atualmente, vivo e sem evidência de doença. Paciente 3, 59 anos, com história prévia de LLA, evoluiu com surgimento de múltiplos nódulos hepáticos e em mesentérico e biópsia compatível com LNH DGCB tipo GCB. Foi primariamente refratário a R-CHOP, R-ESHAP e R-ICE, com doença primariamente progressiva. Por causa das múltiplas comorbidades, optou-se por não proceder para TCTH autólogo. Iniciado R-lenalidomida, sem resposta. Atualmente, vivo, porém em progressão de doença. **Conclusão:** R-Lenalidomida pode ser um esquema ativo em pacientes com LNH DGCB não elegíveis para terapias de altas doses. Apesar de a literatura favorecer resposta em pacientes com fenótipo tipo ABC, um dos nossos casos tinha fenótipo tipo GCB. A toxicidade hematológica é frequente, mas pode ser superada com ajuste de doses.

422. DOENÇA DE CASTLEMAN – RELATO DE CASO

Barros MPB^a, Almeida MNCS^b, Madeira PNM^a, Muzzi GC^{a,b}, Oliveira HM^a, Costa AL^a, Lodi FM^a

^a Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A doença de Castleman é uma desordem rara, de curso clínico geralmente benigno. É a doença linfoproliferativa benigna que mais envolve os linfonodos mediastinais, mas pode se apresentar com linfonomegalia cervical e abdominal. Parece estar associada a alguns agentes, como o herpes vírus humano tipo 8 e o vírus HIV. Pode ser dividida em unicêntrica, uma forma localizada da doença, e multicêntrica, essa mais agressiva, com acometimento de vários linfonodos, presença de esplenomegalia e sintomas sistêmicos. **Relato de caso:** A.C., 71 anos, sexo masculino, portador de Aids desde 2001, foi encaminhado à pneumologia com linfonomegalias mediastinais em TC de tórax, feito em maio de 2014. Queixava-se de cansaço e mal-estar. Ao exame, apresentava linfonomegalia cervical bilateral. A TC de abdome mostrou linfonomegalias retroperitoneais. A biópsia do linfonodo cervical foi compatível com doença de Castleman. Foi feito Pet-Scan de corpo inteiro e evidenciaram-se linfonodos hipermetabólicos supra e infra-diaphragmáticos. Optou-se por iniciar R-CHOP (rituximabe + ciclofosfamida + doxorubicina + vincristina + prednisona), com uma previsão de quatro ciclos. No momento, o paciente já está em propedêutica para definição de resposta.

423. TRATAMENTO DE RESGATE EM PACIENTES LINFOMA NÃO HODGKIN DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B: ANÁLISE RETROSPECTIVA HOSPITAL A.C. CAMARGO CANCER CENTER

Abrahamo ABK, Vieira GMM, Moura FL, Filho JS, Nascimento MM, Pereira AAR, Lima VCC, Rocha TMBS

A. C. Camargo Cancer Center, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma não Hodgkin é a quinta causa de morte por câncer nos Estados Unidos e sua incidência aumentou nos últimos 40 anos. Entre eles, o linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B (LNHDGCB) é o subtipo de neoplasia mais comum, responsável por até 40% dos casos. A incorporação do anticorpo monoclonal rituximabe aumentou a taxa de resposta quando usado em primeira linha para os pacientes portadores desse subtipo de linfoma. No entanto, até 40% dos pacientes com LNHDGCB podem não responder ao tratamento, ser considerados refratários primários ou apresentar recidiva após remissão completa. Na literatura, a taxa de cura desses pacientes com o tratamento de resgate incluindo autotransplante de medula óssea está em torno de 40%. Não se têm dados consistentes na literatura se o uso do anticorpo monoclonal rituximabe melhoraria ou não essa taxa de resposta. **Objetivos:** Avaliar a

sobrevida dos pacientes acompanhados no A.C. Camargo Cancer Center após documentada doença refratária ou recidivada e comparar pacientes que usaram ou não tratamento de resgate associado a rituximabe. Todos os pacientes usaram o anticorpo monoclonal na primeira linha de tratamento. **Material e métodos:** O trabalho foi retrospectivo, a partir da coleta de dados de prontuários em pacientes acompanhados de 2007 a 2014.

Resultados: Foram avaliados 40 pacientes com história de doença refratária e recidivada no período descrito. Com seguimento de 36 meses, 48% tiveram resposta com o tratamento de resgate e a mediana de sobrevida global foi de 10 meses, com 21 óbitos no momento da análise. Vinte e seis (39) tinham estágio avançado ao diagnóstico e 36,8% tinham o perfil de célula ativada pelos critérios de Hans no estudo imuno-histoquímico; 17 foram considerados quimiorrefratários ao diagnóstico e 23 tiveram recidiva após remissão completa; quatro não puderam ser avaliados quanto ao uso ou não de rituximabe. Dos 36 pacientes restantes, 27 haviam usado e nove não haviam usado o anticorpo monoclonal rituximabe. Quando colocados os dados na curva de Kaplan Meyer para avaliação de sobrevida, nenhum dado avaliado teve impacto na sobrevida (estágio inicial, perfil imuno-histoquímico, tipo de resposta inicial ou uso de rituximabe no esquema de resgate). **Conclusão:** A taxa de resposta e sobrevida encontrada nesta coorte é igual à da literatura previamente descrita (aproximadamente 45%) e não foram encontrados nesta amostra fator de risco para pior sobrevida nem o uso do anticorpo monoclonal rituximabe nos pacientes que fazem segundo tratamento para DLGCB.

424. MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM NA SANTA CASA DE SÃO PAULO

Gonzaga SFR, Brasil SAB, Paes RAP, Chiattonne CS

Santa Casa de Misericórdia, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: A macroglobulinemia de Waldenström é uma desordem de células B linfoproliferativas caracterizada por infiltração na medula óssea de células linfoplasmocíticas associada à presença de proteína monoclonal IgM. É classificada como linfoma linfoplasmocítico pela Revised European American Lymphoma (Real) e Organização Mundial de Saúde (OMS). Compreende 1,5% dos linfomas nodais e acomete adultos com idade superior a 60 anos com discreto predomínio no sexo masculino. Os principais diagnósticos diferenciais são: mieloma múltiplo IgM, linfoma de zona marginal e linfoma do manto. Aproximadamente 15% dos pacientes apresentam organomegalia e/ou linfonodomegalia, diferentemente de outros linfomas indolentes de células B; 40% dos casos podem apresentar citopenias (anemia e/ou plaquetopenia). A síndrome de hiperviscosidade pode ocorrer em 30% a 70% dos pacientes, geralmente com níveis de IgM acima de 3 g/dL, e cursa com manifestações hemorrágicas e alterações neurológicas. Em 20% dos casos podem ocorrer fenômenos autoimunes ou crioglobulinemia. A IgM pode se depositar na pele, no trato gastrointestinal, nos rins, assim como pode haver infiltração dos tecidos por células linfoplasmocíticas ou deposição de fibras amiloides que leva à disfunção orgânica. A sobrevida global média é de 5-6 anos e representa uma doença indolente com grande variabilidade prognóstica. Estudos mostraram que pior prognóstico está associado a idade avançada, citopenias, organomegalia, hipalbuminemia e valor de B2 microglobulina e IgM monoclonal sérico elevados. O International Prognostic Scoring System (ISS-WM) é o mais usado; pacientes com baixo risco apresentaram sobrevida em cinco anos de 87% e os de alto risco de 36%. A decisão de iniciar tratamento deve considerar os níveis séricos de proteína monoclonal, sinais e sintomas progressivos de doença. As opções terapêuticas são principalmente os agentes alquilantes, análogos de purina e anticorpo monoclonal anti-CD20 isoladamente ou em combinações, de acordo com considerações individuais. Em pacientes com hiperviscosidade sintomática o tratamento recomendado é a plasmaférese terapêutica. **Objetivo:** Por causa da falta de dados brasileiros, revisar e analisar estatisticamente os dados dos prontuários dos pacientes com macroglobulinemia de Waldenström em acompanhamento no Serviço de Hematologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. **Material e métodos:** Foram analisados 16 prontuários; a idade média encontrada foi de 57,5 anos com mediana de 58 (33-78). Houve um discreto predomínio no sexo masculino, com 1,66 homem para cada mulher. O valor de IgM inicial variou de 1.426 a 16.646 mg/dL e o valor de IgA estava abaixo do limite de normalidade em todos os pacientes. Seis pacientes (42%) foram admitidos no nosso serviço com hiperviscosidade sintomática com necessidade de plasmaférese e somente um paciente não necessitou de tratamento no início do acompanhamento clínico. **Conclusão:** Esses dados diferem da

literatura mundial, visto que menos de 15% dos casos apresentam hiperviscosidade sintomática ao diagnóstico e 25% são assintomáticos. Segundo o International Prognostic Scoring System (ISS-WM), quatro pacientes (25%) foram classificados como baixo risco, seis (42%) como intermediário e seis (42%) como alto. Um paciente evoluiu com transformação para linfoma difuso de grandes células B e um paciente apresentava anemia hemolítica autoimune por anticorpo frio.

425. CLINICAL OUTCOME OF RITUXIMAB-BASED IMMUNOCHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA: A SINGLE CENTER, RETROSPECTIVE STUDY IN A "REAL-WORLD" CLINICAL SETTING

Scheliga A^a, Silva JL^a, Pereira IGA^b, Pinto LW^c, Pinto MM^d, Paula E^d, Thuler LCS^d, Stefanoff CG^d

^a Serviço de Oncologia Clínica, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^b Serviço de Hematologia, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^c Divisão de Patologia (DIPAT), Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^d Serviço de Pesquisa Clínica/CGEP, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Introduction: Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common subtype of non-Hodgkin's lymphoma (NHL), accounting for approximately 30% of all newly diagnosed cases and for over 80% of aggressive lymphomas. The cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) chemotherapy has been the standard first-line therapy for several decades. Recently, the addition of rituximab (R-CHOP) became the standard of care for patients with DLBCL, and clinical trial results have suggested that this is a cost-effective alternative to CHOP. Little is known regarding the outcome of unselected patients receiving R-CHOP chemotherapy, particularly in developing countries whose widespread use is still limited by the lack of financial coverage. **Objectives:** The aim of this single-center retrospective study was to evaluate the clinical outcome of R-CHOP chemotherapy in a real-world clinical setting. **Patients and methods:** The study was approved by INCA's Ethics Committee. Two hundred consecutive patients with untreated *de novo* CD20+ DLBCL who had received R-CHOP regimen as first-line treatment between March of 2008 and March of 2011 were included. Histological diagnoses were reviewed according to the World Health Organization (WHO) classification. HIV+ positive patients or those with primary CNS involvement were excluded. **Results:** Median age at diagnosis was 60 years (range 46-71), the male:female ratio was 1:1. Advanced disease (stages III-IV), PS ≥ 2 and elevated LDH level were observed in 48.5%, 31.8%, and 44.5% of the patients, respectively. Ten patients had bone marrow involvement (5.0%) and, in 31%, tumor size was larger than 7.5 cm. Most patients received six to eight cycles of R-CHOP (84.5%) and had a complete assessment of treatment response (91.0%). The average time between diagnosis and treatment initiation was 4.5 weeks (range 1-28). Of 182 patients evaluated for treatment response, the overall response rate was 92.3% (CR 78.0% and PR 14.8%). Of 144 patients who achieved CR, relapse was reported in 15 (10.4%) at a median follow-up period (FUP) of 8.5 months (range 2.2-45.6). The five-year overall survival (OS) and event-free survival (EFS) rates were 68.5% and 66.0% respectively, with a median FUP of 51.5 months (range 8.18 - 75.43). The IPI score remained predictive: the five-year EFS rates ranged from 26.1% to 80.5% ($p < 0.0001$), and the five-year OS rates ranged from 30.4% to 82.8% ($p < 0.0001$), however, no differences in outcome were observed in the low-intermediate/high intermediate groups. Moreover, the application of the revised IPI (R-IPI) allowed to discriminate three distinct prognostic groups with five-year EFS, ranging from 50.0% to 87.1% ($p = 0.001$) and five-year OS ranging from 51.7% to 90.3% ($p < 0.001$). **Conclusions:** The similarity between EFS and OS in this cohort highlights the modest impact of second-line therapy in DLBCL patients whose lymphoma is not cured with front-line therapy. Although longer FUP is required to determine any OS benefit, the present clinical outcome data lend further support to the utility of rituximab-based immunotherapy as a standard first-line therapy for DLBCL in routine clinical practice, especially in the context of the public health system. **Funding:** FAPERJ Proc. E-26/111.429/2012; GlaxoSmithKline (GSK).

426. LEUCEMIA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS EM PACIENTE COM LINFOMA T/NK NASAL – RELATO DE CASO

Eduardo JM^a, Torres MIB^a, Salgues ACR^a, Noriega LF^a, Oliveira VH^b, Guiguer IC^b, Casati MFM^b, Pallotta R^c, Borducchi DMM^c

^a Hospital do Servidor Público Municipal, São Paulo, SP, Brasil

^b Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

^c Departamento de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

Introdução: A leucemia de células dendríticas é uma neoplasia hematológica rara, altamente agressiva. Representa menos de 1% das leucemias agudas. Predomina no sexo masculino, com maior incidência acima dos 66 anos. Caracteriza-se pela expressão de CD4+ e CD56+, na ausência de outros antígenos linfoides, *natural killer* (NK) ou mielóide. A leucemia de células dendríticas apresenta-se, em geral, com lesões cutâneas seguidas de disseminação tumoral e envolvimento de medula óssea. Observa-se excelente quimiossensibilidade inicial, porém recidiva precoce e evolução ao óbito na maioria dos casos. **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente do sexo feminino, jovem, com apresentação inicial de linfoma não Hodgkin células T NK extranodal com evolução para leucemia de células dendríticas. **Relato de caso:** Paciente E.S., 32 anos, sexo feminino com diagnóstico de linfoma de células T NK nasal em fevereiro de 2013. Biópsia de medula óssea, tomografia computadorizada de tórax e abdome sem evidência de infiltração neoplásica. Foi tratada com radioterapia associada à cisplatina por quatro semanas e quimioterapia esquema VIPD associado à mesna, por quatro ciclos, último ciclo em junho de 2013. Houve remissão completa do tumor. Em dezembro de 2013, paciente retorna com queixa de dor em face medial de membro superior esquerdo, cervicalgia à esquerda, cefaleia e náuseas. Imunofenotipagem de líquor evidenciava infiltração por células linfoides anômalas com expressão CD4, CD56 e HLA-DR. Diagnóstico de recidiva da doença com infiltração de sistema nervoso central. Feito tratamento com esquema MADIT por quatro semanas, sendo o último ciclo em janeiro de 2014. Ressonância nuclear magnética de crânio e coluna cervical de controle sem lesões. À biópsia, medula óssea hipocelular e normaturativa (cerca de 40%). Em março/2014, paciente retornou com quadro de epistaxe, mas sem evidência de lesões cutâneas. Hemograma revelou pancitopenia. Imunofenotipagem com CD4+, CD56+, CD123, HL-DR de forte intensidade nas populações anômalas, sugestiva de leucemia de células dendríticas plasmocitoides blásticas. Miелоgrama compatível com leucemia aguda. Iniciada, então, quimioterapia com HyperCVAD. Após o primeiro ciclo de quimioterapia foi feito novo mielograma com aspecto medular normocelular e com blastos de 6,8%. Imunofenotipagem com doença residual mínima detectada. Paciente continua em vigência do esquema HyperCVAD. **Discussão:** As malignidades CD4+ e CD56+ são neoplasias hematopoiéticas raras, recentemente ligadas às células dendríticas linfoplasmocitoides. Os poucos casos descritos tipicamente apresentam-se com lesões cutâneas, seguidas de disseminação tumoral com curso geralmente agressivo e evolução ao óbito. O diagnóstico é baseado principalmente no perfil imunofenotípico das células. São observadas altas taxas de remissão e recidiva. A raridade dessa entidade é responsável pela incerteza sobre a melhor conduta terapêutica. Neste caso apresentado, algumas características clínicas e biológicas não se assemelham àquelas descritas na literatura: idade de apresentação e ausência de lesões cutâneas. Essas diferenças, corroboradas pela descrição de outros casos semelhantes na literatura, mostram que existe heterogeneidade clínico-biológica dentro dessa entidade neoplásica, apesar de sua raridade. **Conclusão:** A leucemia de células dendríticas é uma entidade infrequente, de comportamento agressivo e prognóstico reservado.

427. DOENÇA DE CASTLEMAN: SÉRIE DE 11 CASOS OBSERVADOS EM UMA ÚNICA INSTITUIÇÃO

Aquino NL^a, Carvalho AV^a, Junior ACM^a, Chaves BMF^a, Brito JSM^a, Zuza ABG^a, Júnior SAO^a, Lemos TEV^a, Maciel JFR^b

^a Universidade Potiguar (UnP), Natal, RN, Brasil

^b Liga Norte Riograndense Contra o Câncer, Natal, RN, Brasil

Introdução: A doença de Castleman (DC) é descrita como uma doença linfoproliferativa rara, também chamada hiperplasia linfonodal angiofolicular, geralmente benigna. Todavia, pode comportar-se de maneira agressiva ou estar relacionada a outras patologias malignas como sarcoma de Kaposi, linfoma e síndrome de Poems. Atualmente, estão definidos três ti-

pos histológicos: células plasmáticas, variantes hialino-vascular e misto. Esses tipos podem se subdividir ainda nas formas unicêntrica ou multicêntrica. Os linfonodos mediastinais são os mais acometidos, mas pode estar presente em outras regiões, como cabeça e pescoço, na forma de adenopatia cervical de etiologia desconhecida. **Objetivo:** Relatar uma série de casos de DC no serviço de Hematologia da Liga Norte-Rio-Grandense Contra o Câncer. **Material e métodos:** Foi feita uma busca retrospectiva nos prontuários do serviço, de 2006 a 2013, na qual foi constatada a presença de 11 casos de pacientes acometidos pela doença. **Resultados:** Dos 11 casos relatados, 72,73% (n = 8) eram mulheres e 27,27% (n = 3) homens, com idade entre 16 e 62 anos. Apenas um (9,09%) paciente desenvolveu uma doença multifocal. Nos demais foi unifocal. Quanto à região acometida, 54,55% (n = 6) manifestaram acometimento cervical, 9,09% (n = 1) mediastinal, 18,18% (n = 2) retroperitoneais e 18,18% (n = 2) axilares. O tempo médio de evolução das lesões foi de seis anos e meio (1-10 anos), com tamanho médio de 3,6 cm (1,8-7,5 cm) no momento do diagnóstico. Dos pacientes com diagnóstico histopatológico, 54,55% (n = 6) apresentaram a variante hialino-vascular. O tratamento com excisão cirúrgica foi feito em todos os pacientes. Desses, apenas 18,18% (n = 2) foram submetidos a quimioterapia. Apenas 9,09% (n = 1) dos pacientes progrediu para linfoma, o único caso com evolução para óbito. **Discussão:** Foi observada neste estudo uma população predominantemente feminina, apesar de a DC não ser uma doença com predileção por sexo. A média foi de 41 anos ao diagnóstico e concorda com as evidências da literatura atual, de que os adultos jovens são os mais acometidos. Corroborando a epidemiologia da doença, a população pediátrica foi rara (com apenas um caso), o tipo unicêntrico hialino vascular foi predominante no estudo e a evolução para linfoma foi incomum. A inespecificidade da apresentação da maioria, com uma adenopatia cervical sem sintomas gerais, é um fator complicador na formulação de um diagnóstico diferencial, tendo que contar com recursos de imagem de alta complexidade, característica comum no curso diagnóstico da DC. O caráter benigno da doença foi bem representado nessa população. **Conclusão:** A diversidade de pacientes e terapias na DC nos faz tirar várias conclusões sobre a história natural, o que torna o prognóstico desafiador. As intervenções precoces no tratamento da DC são as usadas na terapia padrão das doenças linfoproliferativas, incluindo a excisão cirúrgica, quimioterapia (ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina e prednisona [CHOP] ou dexametasona [CVAD], ambos com sucesso misto) e radioterapia. Novos estudos usam terapias dirigidas a alvos específicos e mostram uma grande promessa, a exemplo: corticosteroides, interferon-alfa, ácido transretinoico, talidomida, anticorpo monoclonal anti-IL-6, rituximabe, terapia antiviral.

428. O IMPACTO DA ADIÇÃO DO ANTI-CD20 NO TRATAMENTO DO LNH DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS. EXPERIÊNCIA DO HCFMRP-USP

Aranes AQ, Leal CT, Vassalli LC, Khoury LCA, Dutra VF, Simões BP

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: O linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B (LNHDGB) é uma das neoplasias hematológicas mais comuns e a sexta entre todas. A introdução do anticorpo monoclonal anti-CD20 rituximabe demonstrou na literatura ser capaz de aumentar as taxas de resposta e de reduzir o número de recidivas. Não há dados do impacto da adição desse anticorpo em pacientes em nosso País. **Objetivo, material e métodos:** Avaliar o impacto do tratamento com R-CHOP quando comparado ao CHOP com ou sem bleomicina em pacientes seguidos em nosso hospital desde 1993 em termos de sobrevida global e taxa de recidivas. **Resultados:** Identificamos 130 pacientes com idade superior a 18 anos com diagnóstico de LNHDGB que foram submetidos a tratamento com RCHOP ou CHOP com ou sem bleomicina. Para fins de análise pacientes tratados com CHOP com ou sem bleomicina foram considerados em um mesmo grupo (CHOP). Foram 65 casos com tratamento com RCHOP e 65 com CHOP. O número de casos em que se avaliou o Ki67 foi significativamente inferior (teste de Fisher, p = 0,0063) nos pacientes mais antigos tratados apenas com CHOP. Os demais parâmetros não diferiram nos dois grupos. A sobrevida global (*log rank*) foi significativamente diferente entre os dois grupos. Aos cinco anos de seguimento a sobrevida global era de 68% para RCHOP e 38% para CHOP. A mediana de sobrevida foi de 1.034 dias para o grupo CHOP e não alcançada no grupo RCHOP. As taxas de recidiva/refratários foram significativamente superiores no grupo CHOP (43%) quando comparado ao grupo RCHOP (25%) (teste de Fisher, p = 0,043, RR 1,31-CI 95%). **Conclusão:** Apesar de não tratar-se de estudo randomizado, esta análise representa

dados de vida real em um hospital terciário universitário no Brasil. Para fins de políticas públicas nota-se claramente o impacto da introdução do rituximabe também entre os pacientes brasileiros.

429. LINFOMA NÃO HODGKIN DE GRANDES CÉLULAS B PRIMARIAMENTE MEDIASTÍNICO – RELATO DE CASO

Duarte CMA^a, Gomes BAB^a, Dantas EA^a, Júnior ALAI^a, Carvalho NB^a, Pita DFO^a, Dourado ACG^a, Filgueiras PL^a, Lima ARM^b, Botelho LFB^a

^a Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil

^b Instituto Cândida Vargas, João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: O linfoma não Hodgkin difuso de células B primário de mediastino (LBPM) é um subtipo agressivo do linfoma de grandes células B (LGCB) com origem tímica e características peculiares. Tem maior incidência entre os 30 e 40 anos, principalmente em mulheres. A clínica cursa, em geral, com sintomas (tosse, dor, disfagia, síndrome da veia cava superior [SVCS], edema facial etc.) resultados da presença da massa mediastinal anterior de crescimento rápido. A afecção de sítios extranodais (como medula óssea, sistema nervoso e rins) já foi descrita na literatura, sobretudo em casos de reincidência. O diagnóstico se faz por biópsia da massa mediastinal e estudo histopatológico e imuno-histoquímico. O LBPM se apresenta geralmente em estágio IIIAX. As modalidades terapêuticas empregadas para o LBPM são a quimioterapia, radioterapia e quimioterapia de altas doses com transplante de medula óssea. A sobrevida em cinco anos é superior a 70%. **Relato de caso:** G.A.S., 35 anos, masculino, casado, comerciante, natural e procedente de João Pessoa (PB). Foi encaminhado ao serviço onco-hematológico de referência por apresentar um quadro de tosse seca e dispneia aos moderados esforços havia dois meses, associado à perda ponderal de seis quilos e febre esporádica. Negou antecedentes de doenças crônicas, uso crônico de medicamento, tabagismo e etilismo. Ao exame físico, não se palpavam linfonodos ou visceromegalias, bem como não foram identificados sinais da SVCS. A radiografia de tórax evidenciou um alargamento mediastinal, a partir do qual se indicou a biópsia da lesão, com o estudo imuno-histoquímico. Os achados concluíram o diagnóstico de LBPM. O paciente foi submetido a tomografia computadorizada (TC) contrastada de pescoço, tórax, abdome e pelve, bem como biópsia de medula óssea (BMO). Aos exames, foram evidenciados uma volumosa lesão expansiva sólida e heterogênea, com 11 x 10 x 9,2 cm, na região mediastinal anterior, junto aos hilos pulmonares, e na região infracardinal e um pequeno derrame pleural à esquerda. Não houve alteração digna de nota nos demais exames. Com isso o paciente foi estadiado clinicamente no estágio IXB. A partir de então, iniciou-se o esquema quimioterápico R-CHOP, com programação de seis ciclos, com avaliação radioterápica de campo envolvido. Atualmente completa o quarto ciclo, evolui com melhoria clínica significativa da dispneia e dos sintomas B. **Discussão:** O LBPM apresenta uma baixa incidência quando relacionado aos outros LGCB e uma fração ainda menor quando comparado aos linfomas não Hodgkin no geral. Diante disso, o relato presente torna-se ainda mais peculiar por evidenciar um caso de LBPM em um paciente do sexo masculino e com pouca expressividade clínica ao diagnóstico. Em adição, o paciente recebeu um estágio pouco comum, comparado aos casos diagnosticados dessa enfermidade e apresenta, até então, uma boa resposta ao tratamento inicial instituído, a despeito de toda a agressividade e rápida progressão já relatada na literatura acerca desse tipo de linfoma. **Conclusão:** Há certa relevância em considerar essa possibilidade diagnóstica nos casos de massas mediastinais anteriores isoladas, associada a sintomas B, com um correto estadiamento clínico e adoção da terapêutica preconizada de maneira rápida e aprimorada, considerando sempre a possibilidade de uma boa resposta clínica à conduta.

430. AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DA HALOFUGINONA EM LINHAGENS CELULARES DE LINFOMA DE CÉLULAS DO MANTO POR MEIO DE MODELOS DE XENOTRANSPLANTE EM CAMUNDONGOS

Santos MG^{a,b}, Pacheco LZC^b, Rizzatti EG^a, Kerbauy DMB^{a,b}

^a Laboratório Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

^b Escola Paulista de Medicina (EPM), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma de células do manto (LCM) é o subtipo de linfoma não Hodgkin de pior prognóstico clínico na atualidade. O LCM caracteriza-se pela t(11;14), que leva à hiperexpressão da ciclina D1 e consequente

ativação do ciclo celular. Dois terços dos pacientes têm doença avançada ao diagnóstico e mais da metade tem infiltração da medula óssea ou sangue periférico. Os pacientes têm boa resposta aos tratamentos de primeira linha, mas a recidiva é a regra. A doença passa a ter respostas mais curtas ou torna-se resistente e incurável com quimioterapia convencional. Por isso, novas drogas que combatam a resistência e proporcionem respostas duradouras são claramente necessárias. Em estudos prévios, foi demonstrado que a exposição à halofuginona (um antifúngico com reconhecida atividade anti-TGF- β), em concentrações nanomolares, tem significativo efeito citotóxico em linhagens celulares de LCM e induz apoptose e parada do ciclo celular. Este efeito foi mais evidente na linhagem Mino (considerada sensível à ação da halofuginona), em relação à linhagem HBL-2 (considerada resistente à ação da droga). Tais resultados, porém, foram obtidos com linhagens celulares em experimentos *in vitro*. **Objetivo:** Desenvolver um modelo *in vivo* de LCM com essas linhagens celulares, para estudos de eficácia da droga em animais. **Material e métodos:** Foram usados 90 camundongos NOD-SCID ou Gama Null com idade entre seis e nove semanas, alocados entre experimentos de injeção intrafemoral ou subcutânea das linhagens de LCM. Nos camundongos submetidos à injeção intrafemoral, foram feitos estudos de desenvolvimento de um modelo de LCM *in vivo*. Nos camundongos que receberam injeção subcutânea, foram feitos estudos de eficácia da droga, por meio de injeções intraperitoneais de 500 μ g de halofuginona por kg de peso do animal. Os animais foram divididos em grupos, controle ou tratado, para cada uma das linhagens celulares, e foram sacrificados quando uma das dimensões do tumor atingia mais de 3 cm. Ensaios de citometria demonstraram que, para ambas as linhagens celulares, houve “pega” do transplante, demonstrada pela presença dessas células em sangue periférico e medula óssea dos animais. Para os animais que receberam injeção subcutânea de HBL-2, a média de tempo para desenvolvimento do tumor foi de 11,5 dias, para o controle, e 12,7 dias, para o tratado. A média de tempo para sacrifício dos animais foi de 19,5 dias, para o controle, e 20,2 dias, para o tratado. Para os animais que receberam Mino, o tempo de desenvolvimento do tumor foi de 15,1 dias, para o controle, e 16,5 dias, para o tratado. O tempo para sacrifício foi de 28 dias, para o controle, e 30,2 dias, para o tratado. **Resultados:** Tais dados corroboram a resistência da linhagem HBL-2 e a sensibilidade da linhagem Mino à halofuginona, observada nos experimentos prévios *in vitro*. Dessa forma, foi possível desenvolver um modelo de xenotransplante em camundongos, por meio da injeção intrafemoral de linhagens celulares de LCM. Além disso, foi possível avaliar a eficácia da halofuginona, por meio dos experimentos de injeção subcutânea das linhagens. **Conclusão:** Esses achados fornecem embasamento para uma melhor exploração das atividades da halofuginona *in vivo*. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (2010/17668-6), Financiadora de Estudos e Projetos (Finep) (0786/11) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (141795/2012-3).

431. SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICA EM PACIENTE COM LINFOMA T HEPATOESPLÊNICO

Fernandes CM, Cabral TCDS, Lage LAPC, Siqueira SAC, Zerbini MCN, Pereira J

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Os linfomas de células T hepatoesplênicas são neoplasias malignas raras, que correspondem a menos de 1% dos linfomas não Hodgkin. A média etária ao diagnóstico é de aproximadamente 35 anos e exhibe predomínio no sexo masculino. Em mais de 20% dos casos há relato de uso de terapias de imunossupressão crônica. Esse tipo de linfoma acomete principalmente os sinusoides esplênicos, hepáticos e da medula óssea. Em mais de 30% dos casos pode haver envolvimento do sangue periférico com fase leucêmica associada. É uma neoplasia agressiva, com sobrevida média menor do que dois anos. Normalmente os pacientes respondem a quimioterapia de indução, mas frequentemente recaem. **Relato de caso:** Mulher de 32 anos, sem antecedentes patológicos, procurou nosso serviço com história de astenia, febre e aumento do volume abdominal havia um mês. Não fazia uso de medicações. Negou antecedentes familiares de doença onco-hematológica. Ao exame físico apresentava hepatomegalia e esplenomegalia volumosa, sem linfonodomegalia ou lesões cutâneas. Nos exames laboratoriais mostrava hemoglobina normal, com VCM aumentado (115) e eritroblastos circulantes, leucocitose de 22.020/mm³, sendo 13.870/mm³ neutrófilos e 5.500/mm³ linfócitos, plaquetopenia de 59.000 e desidrogenase lática 1.734U. Tomografia computadorizada de pescoço, tórax, abdome e pelve

revelou hepatomegalia homogênea e esplenomegalia volumosa com várias áreas isquêmicas, sem linfonomegalia. Sorologias virais negativas. Citogenética normal. Biópsia de medula óssea evidenciou hiperplasia de células linfoides pequenas, intrassinusoidais, que eram, na imuno-histoquímica, CD3 e CD7 positivas, CD5, CD4, CD8 e CD57 negativas, compatível com infiltração por linfoma T hepatoesplênico. Foi iniciado tratamento com o esquema HyperCVAD, porém na avaliação após quarto ciclo foi evidenciada refratariedade ao esquema terapêutico, substituído pelo ICE, também refratária, com citopenias mantidas. Foi feito novo estudo da medula óssea em que se evidenciou aumento de células linfoides fusiformes atípicas e figuras de hemofagocitose. Como apresentava nessa época ferritina e triglicérides aumentados, anemia e plaquetopenia, foi fechado diagnóstico de síndrome hemofagocítica. Optou-se nesse momento por iniciar o esquema ESHAP, porém foi também refratária. Foi iniciado gemcitabina e encaminhada para transplante de células-tronco hematopoiéticas alogênico aparentado *fullmatch*. Foram feitos condicionamento com TBI e ciclofosfamida e profilaxia para GVHD com ciclosporina e metotrexato. No D+11 do transplante apresentou choque séptico refratário e evoluiu a óbito. **Conclusão:** Relatamos um caso de linfoma hepatoesplênico refratário a quatro linhas de tratamento, que evoluiu com síndrome hemofagocítica e teve desfecho desfavorável. Há poucos dados na literatura sobre esse tipo de linfoma, a maioria é série de casos, que mostra resposta pobre aos tratamentos, com sobrevida média em torno de dois anos e evolução mais agressiva quando associado à síndrome hemofagocítica.

432. LINFOMA DE GRANDES CÉLULAS B ANAPLÁSICO ALK NEGATIVO ASSOCIADO À MUCOSA – RELATO DE CASO

Sousa RD, Almeida NDF, Resende MMM, Moura MC, Pinto SA

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: O linfoma de grandes células B anaplásico é um subtipo de neoplasia linfóide difusa de grandes células B que apresenta células pleomórficas, citoplasma abundante, núcleo com tamanho igual ou maior do que um macrófago e expressão de CD30. O sítio de apresentação pode ser nodal ou extranodal. O primeiro é mais comum. No acometimento extranodal, 40% dos casos se iniciam no estômago e podem atingir também a medula óssea (MO) ou envolver qualquer sítio do corpo. Entre os subtipos há uma entidade rara, 2-3% dos linfomas não Hodgkin, o linfoma de grandes células B anaplásico ALK-negativo (ALCL-ALK⁻). Geralmente se apresentam com sintomas B e seu diagnóstico é feito no estágio III-IV. Sua incidência está presente em adultos entre 55 e 60 anos, a propagação extranodal é menos comum (20%) e os níveis séricos de desidrogenase de lactato estão elevados. Na imuno-histoquímica (IHQ), além do CD30, o PAX5 é útil para o diagnóstico final. O tratamento é feito com quimioterápicos. O CHOP é a melhor escolha para o tratamento de linfomas sistêmicos. **Objetivo:** Discutir uma neoplasia hematolinfóide associada aos tecidos extranodais da mucosa gástrica por causa de sua infrequência epidemiológica e a dificuldade diagnóstica por assemelhar-se ao carcinoma, ao melanoma e ao sarcoma. **Material e métodos:** Acompanhamento hospitalar do paciente, revisão do prontuário e pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed, LILACS, SciELO e MEDLINE. **Relato de caso:** Paciente, 69 anos, feminino, apresentou quadro de desconforto e dor epigástrica seguida de emagrecimento. Endoscopia digestiva alta evidenciou mucosa espessada com pequena úlcera antral em parede posterior de fundo sujo com apagamento da mucosa marginal. Feita a biópsia endoscópica, o histopatológico revelou tratar-se de uma neoplasia maligna pouco diferenciada e foi solicitado o estudo IHQ para definição de histogênese e o comportamento biológico da lesão. Com estudo IHQ foi diagnosticado ALCL-ALK⁻. No estadiamento clínico não foi encontrada lesão em atividade além do estômago e a biópsia de MO estava livre de comprometimento neoplásico. A paciente encontra-se em quimioterapia. **Discussão:** Nos casos de neoplasias malignas indiferenciadas de grandes células, tem-se a possibilidade dos seguintes diagnósticos diferenciais: adenocarcinoma, linfoma de grandes células B ou T, melanoma, tumores do trato gastrointestinal e sarcomas, entre outros. Sendo assim, para definição diagnóstica foi necessário o estudo IHQ, que definiu o diagnóstico final de ALCL-ALK⁻, por causa da expressão dos marcadores CD30, CD20 e PAX5 positivos, CD3 e ALK negativo. O marcador CD30 se expressa em linfomas de grandes células, CD20 em neoplasias de células B e o PAX5 nunca estará com uma expressão fraca no ALCL-ALK⁻. Associado a IHQ a paciente se enquadrava na faixa etária da doença e apresentou um dos sintomas B. No tratamento com quimioterápicos, a dexorubicina se mostra sensível à doença, porém com frequentes recaídas. O regime alemtuxumab-CHOP é usado com ex-

celente taxa de remissão, porém com alta toxicidade. **Conclusão:** A discussão de um caso que apresenta epidemiologia pouco frequente e definida na IHQ é importante no meio acadêmico e hematológico por causa de suas características clínicas e morfológicas inespecíficas e sua grande quantidade de diagnósticos diferenciais.

433. LINFOMA “DOUBLE-HIT” EM PACIENTE COM INFECÇÃO POR HIV

Mattos VRP, Vargas JC, Esteves I, Hamerschlag N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O risco de linfomas não Hodgkin (LNH) no contexto de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) é de aproximadamente 60-100 vezes superior ao da população geral. O linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) corresponde a 60% dos casos e aproximadamente 5% desses são ditos “Double-Hit”, caracterizados por apresentar rearranjo do gene c-MYC, associado a um ou mais rearranjos cromossômicos recorrentes, em geral do gene BCL-2. Clinicamente, são linfomas muito agressivos, com acometimento extranodal e do sistema nervoso central, que respondem mal à terapia convencional e têm prognóstico reservado. **Objetivo:** Apresentar o caso de um paciente com infecção por HIV diagnosticado com LDGCB “Double-Hit”. **Relato de caso:** Homem, 37 anos, com infecção por HIV havia oito anos, em uso de terapia antirretroviral de alta eficiência (HAART). Duas semanas antes da admissão, iniciou quadro de febre, astenia, sudorese e perda ponderal, associado ao aparecimento de lesões cutâneas eritematosas e nodulares em face e couro cabeludo. Foi admitido com paresia em dimídio direito e escotomas cintilantes. Encontrava-se em mau estado geral, hipocorado, sem linfonomegalias periféricas ou visceromegalias. Exames laboratoriais apresentavam: hemoglobina 7,9 g/dL; leucócitos 6.300/mm³, plaquetas 37.000/mm³; desidrogenase láctica 5.173U/L, B2-microglobulina 4,57 mg/L; sorologia positiva para HIV, com carga viral negativa e contagem de CD4 acima de 300/mm³. Ressonância magnética de crânio evidenciava espessamento de aspecto nodular difuso em partes moles superficiais do crânio, do nervo oculomotor direito, e contração da dura-máter. O líquido cefalorraquidiano apresentava cinco células por mm³, com 40% de células blásticas. A biópsia de pele evidenciou infiltração dérmica e hipodérmica difusa por linfócitos neoplásicos de tamanho médio, que à imuno-histoquímica eram positivos para CD10, CD20, CD79a, BCL-2 e C-MYC, com Ki-67 de 100%. Tanto o mielograma quanto a biópsia de medula óssea mostraram infiltração maciça pelas células linfoides e o estudo citogenético apresentava a t(8;14)(q24;q32) em todas as metáfases estudadas. PET-CT mostrou aumento do metabolismo em múltiplas áreas de espessamento da pele e subcutâneo, aumento difuso do metabolismo na medula óssea e áreas de espessamento da dura-máter. Recebeu diagnóstico de linfoma não Hodgkin B, com características intermediárias entre o LDGCB e o linfoma de Burkitt, estadiamento IVB. Por causa da conhecida agressividade dessa entidade, bem como os piores resultados ao serem empregados os esquemas convencionais de tratamento, optou-se por iniciar terapia com R-DA-EPOCH associado à quimioterapia intratecal, com programação de seis ciclos. Após o início do tratamento, o paciente apresentou melhoria importante das queixas, com recuperação dos déficits neurológicos e regressão das lesões cutâneas. Houve boa tolerabilidade ao esquema empregado e obteve-se resposta completa, confirmada por PET-TC feito após o terceiro e o sexto ciclos. **Conclusão:** A imuno-histoquímica é forte preditor de resultados em pacientes com LDGCB “Double-Hit”. A ativação do MYC promove forte estímulo para a proliferação celular, enquanto a atividade do gene BCL-2 induz resistência à apoptose. Com os tratamentos atuais, a sobrevida livre de eventos em dois anos na população geral gira em torno de 33%, o que indica a necessidade do desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

434. VEGF-2578 C/A, UM POLIMORFISMO ANGIOGÊNICO FUNCIONAL, ASSOCIA-SE COM AGRESSIVIDADE E CURSO CLÍNICO DO LINFOMA FOLICULAR

Mendonça GRA^a, Brito ABC^a, Natal RA^a, Delamain MT^a, Souza CA^a, Colleoni GWB^b, Vassallo J^a, Lima CSP^a

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

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

Introdução: O linfoma folicular (LF) é o segundo linfoma não Hodgkin mais comum no mundo e é caracterizado por um curso indolente e recaídas frequentes. Estudos sobre a doença evidenciaram que a angiogênese

(AG) tem um papel importante na progressão do tumor. O mais importante mediador da AG é o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), codificado por um gene polimórfico. Já é conhecido que o alelo C do polimorfismo VEGF 2578C/A se associa a níveis séricos elevados de proteína. **Objetivo:** Conhecer os papéis desse polimorfismo genético nos aspectos clínicos do LF. **Material e métodos:** A análise incluiu 86 pacientes consecutivos de LF vistos ao diagnóstico no hospital universitário, tratados com 6-8 ciclos de R-CHOP. O DNA genômico foi extraído de amostras de sangue periférico e a genotipagem do VEGF -2578 C/A (rs699947) foi feita com qPCR. A sobrevida global (SG) foi definida como o tempo entre o diagnóstico até a morte por qualquer causa ou último acompanhamento. As diferenças entre grupos foram analisadas por regressão logística. As análises de Kaplan-Meier, Log-Rank e regressão de Cox univariada foram usadas para avaliar os dados de sobrevida dos pacientes. Usou-se $p < 0,05$ como significativo. **Resultados:** Os pacientes deste estudo tinham uma idade média de 56,2 anos no momento do diagnóstico. A maioria (87,6%) era branca e houve uma distribuição equivalente entre os sexos: 43 homens e 43 mulheres; 39 (45,3%) de todos os pacientes apresentavam sintomas B e 63 (73,2%) apresentaram, ao diagnóstico, tumores de estágios III ou IV de Ann Arbor. O Índice Prognóstico Internacional para Linfomas Foliculares (FLIPI) foi avaliado e os pacientes foram classificados da seguinte forma: FLIPI de baixo risco (≤ 1 ponto) foi observado em 34 casos (39,5%), FLIPI de risco médio (2 pontos) em 28 casos (32,6%) e FLIPI de alto risco (≥ 3 pontos) em 24 casos (27,9%). O genótipo VEGF 2578CC foi mais comum em pacientes com sintomas B ao diagnóstico do que naqueles sem sintomas B (51,2% versus 29,7%, $p = 0,04$). A frequência do genótipo VEGF 2578CC também foi maior em pacientes com FLIPI de alto risco do que naqueles com FLIPI de médio e baixo risco (58,3% versus 32,2%, $p = 0,03$). Considerando o desfecho clínico dos pacientes, a presença de FLIPI de alto risco afetou negativamente a SG ($p = 0,02$), assim como sintomas B ao diagnóstico ($p = 0,02$). O genótipo CC 2578 teve também um impacto negativo na sobrevida ($p = 0,01$). Na análise de Cox, a presença de sintomas B, FLIPI de alto risco e o genótipo 2578CC foram também associados a um pior prognóstico ($p = 0,03, 0,01$ e $0,02$, respectivamente). Embora significativo quando ajustado para idade e estadiamento, o papel prognóstico do polimorfismo consistiu apenas em tendência quando ajustado para o FLIPI como um todo ($p = 0,05$). **Conclusão:** Os resultados salientam evidências preliminares de que pacientes de LF com o genótipo VEGF 2578CC, relacionado à alta produção de VEGF, são mais propensos a desenvolver uma doença mais agressiva no momento do diagnóstico e a morrer mais precocemente. Reconhecemos, no entanto, que o nosso estudo se baseia em uma amostra pequena e que coortes mais numerosas deverão ser analisadas, a fim de se avaliarem associações adicionais.

LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA E OUTRAS SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS, INCLUINDO AS POLICITEMIAS

435. DADOS PRELIMINARES DE UMA POPULAÇÃO DE INDIVÍDUOS COM TROMBOCITEMIA ESSENCIAL (TE)

Fernandes PA, Valim AKZ, Okazaki E, Villaça PR, Suganuma LM, Seguro F, D'Amico EA

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Descrita em 1934 por Emil Epstein e Alfred Goedel em pacientes com trombocitose sem eritrocitose evidente, a trombocitemia essencial TE foi agrupada ao grupo das doenças mieloproliferativas em 1951, junto à leucemia mieloide crônica (LMC), à policitemia vera (PV) e à mielofibrose primária idiopática (MF). Já em 2008 foi definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma neoplasia mieloproliferativa. O diagnóstico é feito após a exclusão de outras doenças mieloproliferativas ou de causas secundárias e definido por níveis plaquetários persistentemente elevados, proliferação predominante da série megacariocítica, sem displasia ou fibrose evidentes, com mutação do JAK2V617F em cerca de 50% dos casos. **Objetivo:** Caracterização dos pacientes com diagnóstico de TE segundo a ocorrência de eventos trombo-hemorrágicos ao diagnóstico e seguimento, tratamento proposto e desfechos (óbito,

evolução para leucemia aguda ou mielofibrose e perda de seguimento). **Material e métodos:** Os pacientes foram selecionados de dezembro de 2005 a junho de 2014 e acompanhados no Serviço de Hematologia do HC-FM-USP. Foi feita busca ativa no sistema de prontuário médico eletrônico por meio dos termos plaquetose e trombocitemia. Aqueles com diagnóstico de TE foram incluídos e caracterizados durante o seguimento ou até a ocorrência de um possível desfecho. **Resultados:** Foram selecionados 199 pacientes e excluídos 49 (24%) por outros diagnósticos. Dos 150 pacientes com diagnóstico de TE, 102 eram mulheres (68%), média de idade de 54 anos (14-89); 60 indivíduos (40%) com idade superior a 60, 18 (12%) com tromboembolismo venoso (TEV) prévio e 12 indivíduos com plaquetometria superior a $1.500.000/\text{mm}^3$. Foram classificados como alto risco no início do acompanhamento 54% dos indivíduos. A mutação JAKV617F esteve presente em 48%, todas em heterozigose. Em 37% dos indivíduos com cariótipo, 4% (dois) apresentaram alguma anormalidade: 46,XX, inv(3)(p21p29)[8]/46,XX[4] e 46,XY,inv(9)(p12q13)[20]. Em 88% foi efetuado o tratamento citorredutor em algum momento do acompanhamento, por diagnóstico ou evolução para alto risco. No fim da análise, 78% estavam em uso de hidroxureia, 2% interferon, 6% anagrelide; 2% (três) hidroxureia e anagrelide concomitantes; 23% modificaram a terapia: 17% por ausência de resposta e 67% por efeitos adversos. Durante o acompanhamento ocorreram 39 eventos de TEV e dois sangramentos; 9% evoluíram com fibrose medular e uma transformação para LMA. No fim do período, 7% dos indivíduos perderam o acompanhamento. **Discussão:** Esta análise preliminar demonstra que algumas características de nossa população parecem similares às já descritas: 12% de eventos tromboembólicos ao diagnóstico e até 25% de TEV ou episódios hemorrágicos durante o seguimento. A presença da mutação JAK2 em menor proporção à encontrada em outros estudos (60%) e a evolução para mielofibrose em um número superior de pacientes, ao menos nesta análise inicial, podem demonstrar uma característica particular da população brasileira, mas também salientam a importância do diagnóstico anatomopatológico e molecular criterioso em um grupo de indivíduos que, de maneira geral, apresentam expectativa de vida similar à da população. **Conclusão:** A descrição do uso combinado de hidroxicarbamida e anagrelide em alguns casos particulares poderá auxiliar no manejo de eventuais situações clínicas futuras.

436. LMA SECUNDÁRIA NO CLONE FILADÉLFIA NEGATIVO EM PACIENTE COM LMC – RELATO DE CASO

Paul P, Fernandes EMSA, Assunção PM, Oliveira LC, Percout PO, Dias MA, Delamain MT, Oliveira GB, Lorand-Metze I, Pagnano KBB

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

Introdução: A emergência de anormalidades citogenéticas no clone Filadélfia (Ph1) negativo em pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) em uso de imatinibe foi descrita pela primeira vez em 2002. A incidência varia de 2% a 17% e os mecanismos não são bem conhecidos. **Objetivo:** Relatar caso de paciente com LMC em resposta molecular maior (RMM) em uso de imatinibe que desenvolveu síndrome mielodisplásica (SMD) no clone Ph1 negativo e posterior evolução para leucemia mieloide aguda (LMA). **Relato de caso:** Paciente masculino, 42 anos, diagnóstico de LMC com t(9;22)(q34;q11) em crise blástica (CB) em 1997, tratado com TAD9 com obtenção de resposta hematológica (RH). Abandonou o tratamento até 2004, quando retornou em CB. Foi então tratado com imatinibe 600-800 mg. Obteve RH e, após um ano, resposta citogenética completa (RCC), que atingiu RMM após cinco anos. Em abril/2012 houve aparecimento de anormalidade citogenética nas células Ph1 negativas (46,XY,t(8;16;18)(q? ;q? ;?) [07]/46,XY[13]), em 35% de 20 metafases. Em fevereiro de 2013, apresentou pancitopenia, com Hb = 12,1 g/dl, leucócitos = $2.880/\text{mm}^3$, neutrófilos $979/\text{mm}^3$, plaquetas $26.000/\text{mm}^3$, mantida após três semanas de suspensão do imatinibe. Miелоgrama apresentou-se diluído, sem aumento de blastos. Biópsia de medula óssea (BMO): hipocelularidade moderada, intenso retardo maturo da série granulocítica com atipias e micromegacariócitos esparsos, reticulogênese grau 2. IH: CD34+ em poucas células, sem formação de agregados, CD61+ em micromegacariócitos que realçavam formas hipolobadas e formação de agregados MPO+ difusos. Diagnóstico final: SMD no clone Ph1 negativo. Após três meses evoluiu com crescente necessidade transfusional e pioria das citopenias, com progressão para LMA secundária, com 41% de blastos, Sudan Black positivos. BMO: 40% de células imaturas que expressavam CD34+, grupos celulares que expressavam MPO, expressão anômala de CD20, Pax5, CD2, CD3,

CD5, CD10, CD117, cKit e Tdt. Foi tratado com esquema 3+7 (ARAC e doxorubicina) e evoluiu a óbito por infecção fúngica angioinvasiva, sem recuperação hematopoiética. **Discussão:** Durante o tratamento com imatinibe, podem surgir alterações citogenéticas no clone Ph1 negativo. A maioria dessas anormalidades é similar àquelas encontradas nas SMD, incluindo trissomia do 8, monossomias do 5 ou 7, 20q- e cariótipos complexos. Nem sempre é possível estabelecer criteriosamente o diagnóstico de SMD, mas o quadro frequentemente se manifesta com citopenias e displasia medular e o desfecho comum é a rápida progressão para LMA. De maneira similar ao encontrado na SMD, o fenômeno é mais frequente em pacientes previamente tratados com regimes quimioterápicos baseados em alquilantes ou IFN e o prognóstico extremamente reservado. **Conclusão:** A ocorrência de SMD e LMA no clone Ph1 negativo é um fenômeno raro, de etiologia ainda não esclarecida e pode estar relacionado à existência de clones quiescentes que adquirem vantagem proliferativa no contexto da inibição de BCR-ABL. No acompanhamento dos pacientes com LMC em uso de inibidores de tirosina quinase, a presença de citopenias é uma recomendação para se manter o monitoramento citogenético, mesmo em pacientes com RMM. A citologia de medula óssea deve ser avaliada no intuito de observar atipias.

437. ESTUDO DE CROMOSSOMO FILADÉLFIA VARIANTE EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Marques FK^a, Cueva SDL^b, Assumpção JG^a, Cadar US^b, Ramos LV^b, Ângelo PC^b, Mateo EC^a, Ferreira ACS^a

^a Setor de Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Setor de Citogenética, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa caracterizada pela presença do cromossomo Filadélfia (Ph) em mais de 90% dos casos. O cromossomo Ph clássico resulta da translocação recíproca entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22 [t(9;22)(q34;q11.2)]. Em cerca de 5% a 10% dos casos de LMC pode ser observado o cromossomo Ph variante, que pode ser simples ou complexo. É chamado de simples quando está envolvido outro cromossomo além dos 9 e 22 e o complexo quando há participação de pelo menos mais dois outros cromossomos. **Objetivo:** Relatar os resultados de cariótipo de medula óssea de pacientes com LMC portadores da translocação entre os cromossomos 9 e 22, avaliados no Serviço de Citogenética do Laboratório Hermes Pardini de julho de 2013 a abril de 2014. **Material e métodos:** Dos 236 pacientes, 130 eram do sexo masculino (55,1%) e 106 do feminino (44,9%). A média de idade foi de 50 anos. **Resultados:** Em 15 pacientes (6,36%) foi observado o cromossomo Ph variante, 13 do tipo simples e dois complexos. Os cromossomos envolvidos nas formas variantes foram: 1, 2, 3, 6, 10, 11, 12, 14, 16, 17, 19 e 21. Duas variantes complexas nunca haviam sido descritas [t(9;22;12;21)(q34;q11.2;q13;q11.2) e t(1;9;22;17)(p32;q34;q11.2;p11.2)]; duas variantes simples são novas quanto ao ponto de quebra do terceiro cromossomo envolvido [t(1;9;22)(q21;q34;q11.2), t(9;22;14)(q34;q11.2;q24)]. Entre as variantes observadas, a t(1;9;22)(q32;q34;q11.2) foi aquela descrita mais vezes na literatura. Em três casos os pacientes eram também portadores de alterações cromossômicas adicionais no mesmo clone celular. **Conclusão:** Embora estudos recentes mostrem que a presença do Ph variante não tem impacto na resposta molecular ao tratamento, o perfil de expressão gênica desses pacientes diverge daqueles com a forma clássica da translocação. A detecção de regiões cromossômicas recorrentemente alteradas em LMC pode revelar novos genes envolvidos na etiologia da doença.

438. PRESENÇA DO CROMOSSOMO PH EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA DA HEMOAM

Brasil AMV, Souza ISN, Santos AMFD, Weber SS, Carminé FOC

Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, MG, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal, associada a uma anormalidade citogenética específica, o cromossomo Filadélfia (Ph), que está presente em 95% dos casos. Essa alteração é resultado de uma translocação recíproca e equilibrada entre os braços longos dos cromossomos 9q34 e 22q11, que leva à formação do gene *bcr-abl*, o qual codifica uma proteína com atividade aumentada da tirosina quinase. As análises citogenéticas e moleculares possibilitam

a detecção de alterações cromossômicas e genéticas das células leucêmicas e as correlacionam com o diagnóstico, a classificação e a caracterização de diferentes estágios da doença. **Objetivo:** Estabelecer a frequência do cromossomo Filadélfia em pacientes portadores de leucemia mieloide crônica da Fundação HEMOAM. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo, no qual foram analisados os registros dos pacientes com LMC, no Laboratório de Citogenética, de janeiro de 2012 a abril de 2014. Entre os dados, foram observados: sexo, idade e resultados de cariótipo. Foram feitos os exames de cariótipo de 21 pacientes com LMC. Entre esses, 62% (13/21) eram do sexo masculino e 38% (8/21) do feminino; a faixa etária mais frequente (57,4%) foi entre 19 e 60. **Resultados:** Entre os casos analisados, 81% (17/21) apresentaram metáfases: 47% (8/17) o cromossomo Ph, 29,5% (5/17) cariótipo híbrido (cromossomo Ph + cariótipo normal) e 23,5% (4/17) cariótipo normal. Observamos que, dentre os 17 pacientes dos quais obtivemos resultados conclusivos, 13 (76%) tinham o cromossomo Ph. De acordo com a literatura, essa frequência ocorre em torno de 90% a 95% dos pacientes com LMC. **Conclusão:** Atualmente, a citogenética clássica é complementada com o diagnóstico molecular de transcritos híbridos, como é o caso do BCR-ABL, identificado por RT-PCR, principalmente nos casos nos quais não se detecta o Ph no cariótipo, como também nos casos em que o paciente apresenta fibrose medular e torna-se impossível fazer o exame de cariótipo. Por outro lado, a presença de alterações cromossômicas adicionais mostra um comportamento distinto que não pode ser avaliado pelas técnicas moleculares. Portanto, torna-se imprescindível a ferramenta da citogenética clássica, a qual é considerada padrão-ouro ao diagnóstico, porém associada a outra metodologia que dê o apoio aos pacientes com LMC.

439. EDUCATIONAL LEVEL, NOT INCOME, INFLUENCES ACHIEVEMENT OF OPTIMAL CYTOGENETIC REMISSION IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Rego MFN^a, Metzke K^b, Lorand-Metze I^b

^a Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI, Brazil

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

The Brazilian Ministry of Health has approved imatinib (IM) as frontline treatment for CML in 2008; the drug is provided through the public health program (Sistema Único de Saúde – SUS). Besides, national guidelines regulate the cytogenetic and molecular monitoring of the patients. The authors examined the socio-economic factors influencing complete cytogenetic response (CCR) in 12 months of patients treated at the São Marcos Hospital in Teresina, Piauí, Brazil (February of 2004 to February of 2013). This hospital is the only center for CML treatment in the state of Piauí. Diagnosis was based on peripheral blood counts and cytogenetics/bcr-abl rearrangement (multiplex PCR). Patients diagnosed before 2008 received hydroxiurea or interferon prior to IM, but were intolerant to these medications. Risk was assessed by the Sokal, Hasford, and Eutos scores. Response criteria followed LeukemiaNet/Ministry of Health guidelines. This study assessed 144 patients. According to Sokal, 29% were low risk, 40% intermediate risk, and 31% were high risk. According to Hasford, 60% were low risk, 31% intermediate risk, and 9% were high risk; 85 (59%) patients started IM in the first year after diagnosis (early chronic phase). For all patients median delay to start IM was 6 months (1–59). Median per capita income was R\$ 226.00 (9.00–3,000.00); median years of formal education, four years (0–17); and median distance between home and the healthcare facility, 180 km (1–797). After 12 months of treatment, 55% of the patients achieved CCR: 61% of those using IM frontline and 41% of those using IM when intolerant or resistant to interferon. In the univariate Cox analysis, Hasford risk category ($p = 0.03$) and the Eutos score ($p = 0.08$), in addition the delay between diagnosis and start of the imatinib therapy, were predictive for complete cytogenetic remission ($B = -0.001$; $p = 0.02$). Concerning the demographic and socioeconomic variables, only the educational level (but not income and distance to hospital) had a significant influence on the time to achieve CCR ($B = 0.065$; $p = 0.008$). In the multivariate analysis, only “years at school” ($p = 0.024$), Hasford score ($p = 0.001$); and days of delay in IM initiation ($p = 0.01$) were independent predictive variables to achieve CCR in 12 months. The authors conclude that optimal state-of-art treatment was possible, provided that the medication was always available, a minimal laboratory monitoring was feasible, and patients were thoroughly informed about the long-term treatment.

440. O SILENCIAMENTO DE IRS2 AUMENTA OS EFEITOS ANTIPROLIFERATIVOS E PRÓ-APOPTÓTICOS DE RUXOLITINIB EM CÉLULAS JAK2V617F

Campos PM^a, Machado-Neto JA^b, Favaro P^{a,b}, Costa FF^a, Saad STO^a, Traina F^{a,c}

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

^c Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: O substrato do receptor de insulina (IRS2) medeia sinalização mitogênica e antiapoptótica de IR, IGF1R, EPOR e TPOR. Em células não hematológicas, IRS2 associa-se a proteínas das vias JAK/STAT, PI3K/Akt/mTOR e Ras/Raf/MAPK, envolvidas na proliferação celular. Mielofibrose primária, policitemia vera e trombocitemia essencial (TE) são neoplasias mieloproliferativas (NMP) frequentemente associadas à mutação JAK2V617F e à hiperativação das vias JAK/STAT, PI3K/Akt/mTOR e Ras/Raf/MAPK. Ruxolitinib inibe JAK2, mas a ausência de resposta completa na maioria dos pacientes torna necessária a identificação de outros alvos potenciais. Nosso grupo descreveu previamente a associação constitutiva IRS2/JAK2 em linhagem HEL (JAK2V617F), mas não em U937 e NB4 (JAK2 wild type). A expressão do mRNA de IRS2 em células CD34+ foi significativamente maior em pacientes com TE em relação aos controles e em pacientes com a mutação JAK2V617F versus JAK2 selvagem, o que sugere sua participação na proliferação celular das NMP. **Objetivo:** Caracterizar os efeitos do silenciamento de IRS2 e seu potencial sinergismo com Ruxolitinib no crescimento celular, na clonogenicidade, na apoptose e nas vias JAK/STAT, PI3K/Akt/mTOR e Ras/Raf/MAPK em células JAK2V617F. **Material e métodos:** 2 x 10⁵ células da linhagem HEL foram transduzidas por meio de lentivírus shIRS2 ou shControl e cultivadas com seleção por puromicina. A inibição de IRS2 foi confirmada por RT-qPCR e *immunoblotting*. As células silenciadas e o controle foram tratados com DMSO ou Ruxolitinib (100 e 300nM) e submetidas à avaliação de: (1) crescimento celular por MTT e ensaio de formação de colônias; (2) apoptose por Anexina-V/PI e ativação de caspases por citometria de fluxo e *immunoblotting*; (3) proteínas envolvidas nas vias JAK/STAT, PI3K/Akt/mTOR e Ras/Raf/MAPK por *immunoblotting* com anticorpos específicos. Os resultados foram analisados em oito experimentos diferentes. **Resultados:** O crescimento celular foi significativamente inibido nas células silenciadas para IRS2 ou tratadas com Ruxolitinib em relação ao tratamento com DMSO e um efeito cumulativo foi observado (inibição/ruxolitinib), por MTT e formação de colônias (todos p ≤ 02). O silenciamento de IRS2 induziu aumento significativo da apoptose e apresentou efeito aditivo com Ruxolitinib (Anexina-V e caspases 3,8,9) (todos p ≤ 01). O silenciamento de IRS2 isolado ou associado ao Ruxolitinib reduziu a fosforilação em tirosina de STAT3 e STAT5; no entanto, um efeito cumulativo não foi observado na fosforilação de STAT5, já que o Ruxolitinib isoladamente é um potente inibidor de STAT5. Enquanto a fosforilação de AKT e p70S6K foi significativamente reduzida nas células silenciadas para IRS2, o mesmo não foi observado nas células tratadas apenas com Ruxolitinib. O silenciamento de IRS2 não reduziu a fosforilação em tirosina de JAK2. **Conclusão:** IRS2 associa-se a JAK2 V617F e está envolvido em vias de proliferação celular constitutivamente ativadas nas NMP com essa mutação. O silenciamento de IRS2 aumentou os efeitos antiproliferativos e pró-apoptóticos do Ruxolitinib em células JAK2V617F. Esse efeito cumulativo pode ser explicado pela diminuição da fosforilação de AKT e p70S6K induzidos pelo silenciamento de IRS2, mas não pelo Ruxolitinib isoladamente. No conceito de terapia com múltiplos alvos, IRS, em conjunto com Ruxolitinib, pode ser um potencial alvo terapêutico em NMP JAK2V617F.

441. ESPECTROMETRIA DE MASSAS MOSTRA PERFIL LIPÍDICO METABOLÔMICO PLASMÁTICO EM NEOPLASIAS MIELOIDES

Oliveira AR^a, Silva IDC^a, Turco EGL^a, Júnior HAM^b, Chauffaille MLLF^a

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

^b AB Sciex, Framingham, Framingham, Estados Unidos

Introdução: Milhares de espécies individuais de lipídeos estão presentes nas células e interagem em diferentes compartimentos e na membrana celular. As consequências funcionais dessa diversidade ainda não são to-

talmente compreendidas e ferramentas tecnológicas estão sendo desenvolvidas com a finalidade de uma investigação mais abrangente. Nesse contexto, podemos destacar a revolução das chamadas “ômicas”, que englobam a genômica, proteômica e metabolômica. O estudo mais amplo das moléculas lipídicas, visando a sua caracterização global e sua interação com as proteínas e vias de sinalização, incluindo regulação gênica e suas funções relacionadas à homeostase, as definiu como lipídômicas e aparece como um campo emergente no estudo de diferentes patologias. O metabolismo lipídico intracelular é dramaticamente afetado em numerosas doenças metabólicas originadas por fatores de ordem genética ou nutricional e pode ter implicações para o tratamento delas, incluindo diabetes tipo II, artrite reumatoide, doenças neurodegenerativas, doenças renais e hepáticas e numerosas outras lipodistrofias. Com relação às doenças de caráter neoplásico, sabe-se que a célula cancerosa é dependente de ácidos graxos para a síntese de suas membranas e sinalização celular e, ainda, lipídeos mediadores de sinalização formam fenótipos específicos para tumores. A principal tecnologia usada pelos pesquisadores no campo da lipídômica é a espectrometria de massas, já que permite a caracterização estrutural e quantificação de lipídeos complexos e seus metabólitos. Tendo em vista as potencialidades dessa plataforma tecnológica, consideramos inovador seu uso para estudar possíveis modificações no perfil lipídico metabolômico plasmático em neoplasias mieloides, com o objetivo de identificar de potenciais biomarcadores e entendimento da participação de lipídeos nos fenômenos biológicos decorrentes dessa condição. **Objetivo:** Relatar nossos resultados iniciais. **Material e métodos:** Análise não direcionada “Shotgun” MS/MS foi feita em um laboratório localizado em São Paulo (SP), em um espectrômetro de massas triplo TOF 5600 AB Sciex. Foram analisadas amostras de plasma de 153 participantes, 90 do grupo controle, 43 NMP, 11 SMD e nove LMA. Os dados foram obtidos com o TF Analyst AB-Sciex e processados com o AB Sciex LipidView™ e o programa analítico MetaboAnalyst 2.0. **Resultados:** As neoplasias mieloproliferativas, do ponto de vista de análises lipídômicas plasmáticas globais, são acompanhadas das seguintes modificações: os grupos lipídicos GlcDE (p = 6,1194E-6-log10(p) = 5,2133 FDR = 6.4754E-5), LPA (p = 9,4861E-9-log10(p) = 8,0229 FDR = 4,1739E-7), SQDG (p = 4,2158E-5-log10(p) = 4,3751 FDR = 2,7824E-4) e EE (p = 4,5211E-9-log10(p) = 8,3448 FDR = 2,9839E-7) (Anova e *Post-Hoc*) apresentam expressões distintas nos fenótipos estudados e mostraram maior abundância relativa nos grupos SMD e LMA e menor abundância relativa para os grupos NMP e controle. De modo inverso encontramos o grupo lipídico MAG (p = 1,1907E-8-log10(p) = 7,9242 FDR = 1,8009E-7) (Anova e *Post-Hoc*) em maior abundância relativa nos grupos NMP e controles e em menor abundância relativa nos grupos SMD e LMA. **Conclusão:** Esses achados nos remetem à curiosa e inicial impressão de que esses grupos poderiam estar mais ou menos relacionados ao caráter crônico e agudo dos fenótipos estudados.

442. ASSOCIATION OF TNF- α -308 POLYMORPHISM WITH JAK2 V617F-POSITIVE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS IN BRAZILIAN PATIENTS

Macedo LC^a, Quintero FC^a, Bruder AV^a, Silva SPE^a, Pagnano KBB^b, Almeida D^b, Alencar JB^a, Ferreira ME^a, Sell AM^a, Silvestre APA^a, Visentainer JEL^a

^a Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brazil

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^c Hospital do Câncer de Maringá, Maringá, PR, Brazil

The classical chromosome Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms (MPNs), a group of disorders that share clinical, hematological, and histological features, include polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), and primary myelofibrosis (PMF). Proinflammatory cytokines, such as tumor necrosis factor- α (TNF- α), are elevated in patients with myeloproliferative neoplasms (MPN), but their contribution to disease pathogenesis is unknown. Cytokines and growth factors use JAK kinases proteins for the propagation of intracellular signals. TNF- α is one of these cytokines; it is implicated in a variety of diseases, both infectious and autoimmune. Genetic polymorphisms in the promoter region of the TNF- α gene are involved in the regulation of expression levels and have been associated with various inflammatory and malignant conditions. The aim of this study was to verify the association between the JAK2V617F mutation and two polymorphisms in the promoter region of the TNF- α gene (-308 G/A and -238 G/A), which affect the susceptibility in the development of BCR-ABL-negative chronic myeloproliferative neoplasms in this population. Blood were collected

from 93 patients, from three Brazilian hospitals, who had been previously diagnosed with BCR-ABL-negative cMPN according to the 2008 WHO diagnostic criteria. Blood samples from 20 blood donors were used as controls. The DNA sample was extracted using a commercial kit QIAamp (Qiagen®). Genotypes for the JAK2V617F mutation and both TNF- α (-238 and -308) promoter polymorphisms were detected using the PCR-RFLP. The statistical analysis was performed using the chi-squared test and Fisher's exact test. The tests were considered as statistically significant when $p < 0.05$. The G/G, G/A, and A/A genotypes at position -238 occurred in 81.42%, 18.58%, and 0% of MPN patients JAK2V617F positive and 78.26%, 21.73%, and 0% of MPN patients JAK2V617F negative, respectively. Control patients were not evaluated in that position. The G/G, G/A, and A/A genotypes at position -308 occurred in 47.14%, 51.43% and 1.43% of MPN patients JAK2V617F positive, 69.56%, 26.09%, and 4.35% of MPN patients JAK2 V617F negative subjects, 70.0%, 30.0%, and 0% of control subjects, respectively. Overall, the distribution of the genotype frequencies of TNF- α -308 A/G were significantly different between the MPNs patients with JAK2V617F-positive and the JAK2V617F-negative (OR: 3.0; 95% CI: 1.05–8.50; $p < 0.0388$). However, the comparison of the genotype frequencies of TNF- α -308 A/G of JAK2V617F-positive MPN patients with the control population did not show a strong correlation. The distribution of the genotype frequencies of A/G, GG, and AA at the position -238 were not significantly different between the MPN patients with JAK2V617F-positive and JAK2V617F-negative. The genotype/allele frequencies at position -308 were also compared in each MPN disease entity, PV, ET, PMF, and MPNu, with controls; no significant association was observed. A significant association between the 308 G/A polymorphisms in the promoter region of TNF-alpha is associated with an increased risk of MPNs in JAK2V617F-positive patients. However, further studies and patients are needed to elucidate the clinical implications of these findings.

443. SOMATIC MUTATIONS OF CALRETICULIN IN BRAZILIAN PATIENTS WITH MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

Machado-Neto JA^a, Campos PM^a, Albuquerque DM^a, Costa FF^a, Lorand-Metze I^a, Saad STO^a, Traina F^b

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^b Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Introduction: In December of 2013, somatic mutations in calreticulin (CALR) were identified by two independent groups in patients with essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF) and confirmed by other researchers. CALR mutations have been reported as mutually exclusive with JAK2 and MPL mutations, and may be present in 56% to 88% of the JAK2/MPL-negative cases. Over thirty different CALR mutations in exon 9 have been described, but the most frequent mutations (approximately 80%) could be classified as type 1 (deletion of 52 bp) and type 2 (insertion of 5 bp). Overexpression of the type 1 CALR mutation in Ba/F3 cells (an IL3 dependent cell line) led to cytokine-independent cell growth and activation of STAT5. Recent evidences from gene expression signature also indicate that JAK2 and CALR mutations share mechanisms of malignant transformation, reaffirming the central role of JAK-STAT signaling pathway in myeloproliferative neoplasm (MPN) pathogenesis. **Aims:** To characterize the prevalence and clinical impact of CALR mutations in a Brazilian cohort of MPN patients. **Materials and methods:** Total peripheral blood samples were collected from patients with MPN (n = 73; ET = 32, polycythemia vera [PV] = 20, PMF = 21; JAK2^{V617F} = 45; and JAK2^{wt} = 28). After hemolysis, DNA was extracted using the phenol/chloroform method. JAK2^{V617F} mutation was verified by PCR and specific restriction enzyme digestion. CALR exon 9 mutations were screened by fragment size analysis using 6-FAM-labeled primers and running in a Mega 3500 Genetic Analyzer. CALR mutations were classified as type 1 (deletion of 52 bp), type 2 (insertion of 5 bp), or others. **Results:** CALR mutations were found in 19 patients (ET, n = 13; PMF, n = 6) and were mutually exclusive with JAK2^{V617F}: 19/73 (26%) of total MPN patients and 19/28 (68%) of the JAK2^{wt} patients. Type 1 CALR mutations were found in 53% (10/19; ET = 8, PMF = 2), type 2 in 47% (8/19; ET = 5, PMF = 3), and others in 5% (PMF = 1) of patients. CALR mutations were not detected in PV patients (all JAK2^{V617F} positive). In ET, CALR^{mut} patients

showed reduced hemoglobin levels compared with CALR^{wt} or JAK2^{V617F} patients ($p < 0.01$); no differences were observed in white blood cell, neutrophil, and platelet counts; thrombotic events; hepatomegaly; splenomegaly; and constitutional symptoms. In PMF patients, CALR mutational status was not associated with clinical features. **Conclusion:** CALR mutations are highly frequent in Brazilian patients with MPN. In ET patients, CALR^{mut} patients presented lower levels of hemoglobin compared with JAK2^{V617F}, as previously described. The search of CALR mutations may be a useful tool for MPN diagnosis and further search for this mutation in Brazilian patients would be important to define the local incidence of the mutation, to improve patients' diagnosis and classification, and to better evaluate the impact of these mutations in the outcomes of the present cohort.

444. PERCEPÇÕES DOS PACIENTES SOBRE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA: UM ESTUDO TRANSVERSAL ENTRE PACIENTES BRASILEIROS

Hammerschlag N^{a,b}, Souza C^{b,c}, Cornacchioni AL^{b,d,e,f}, Pasquini R^{b,g}, Tabak D^{b,h}, Spector N^{b,i,j}, Steagall M^b

^a Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brazil

^b Associação Brasileira de Leucemia e Linfoma (ABRALE), São Paulo, SP, Brazil

^c Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^d Instituto de Tratamento de Câncer Infantil (ITACI), São Paulo, SP, Brazil

^e Instituto da Criança, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^f Hospital de Clínicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^g Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

^h Centro de Tratamento Oncológico (CENTRON), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

ⁱ Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^j Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Introdução: Leucemia mieloide crônica (CML) exige estrita adesão à medicação oral e ao monitoramento do sangue e da medula. **Objetivo:** Avaliar percepções de pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) sobre a doença, seu acesso à informação sobre diagnóstico, monitoramento e tratamento, efeitos adversos e a associação desses com dados demográficos, geográficos e de acesso a tratamento. **Material e métodos:** Estudo prospectivo transversal feito com pacientes de LMC cadastrados na Associação Brasileira de Leucemia e Linfoma (Abrale). Pacientes com LMC que recebiam tratamento do sistema público de saúde foram entrevistados por telefone. **Resultados:** Entre os 1.102 pacientes entrevistados, os sintomas que mais frequentemente levaram à busca de consulta foram fraqueza e fadiga. Um terço foi diagnosticado por exames de rotina. O tempo entre sintoma inicial e procura por ajuda foi de $42,28 \pm 154,21$ dias. A maioria foi testada pelo menos uma vez para o cromossomo Filadélfia, mas 43,2% não sabiam os resultados; 64,8% fizeram exame de reação em cadeia da polimerase para o gene BCR/ABL a cada três meses; 47% acreditavam que LMC pode ser controlada, mas 33,1% acham que não há tratamento. Cerca de 24% disseram que ocasionalmente interrompem o tratamento. Imatinibe associou-se com náusea, câimbra e dor muscular. Aderência autorreportada associou-se significativamente com hemograma normal e positivamente com uso de imatinibe. **Conclusão:** Falta informação ou compreensão sobre monitoramento entre pacientes com LMC; eles recebem diagnóstico rapidamente e têm bom acesso ao tratamento. A correta compreensão das ferramentas de controle em LMC está prejudicada entre eles.

445. QUALITY OF LIFE OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA PATIENTS IN BRAZIL: ABILITY TO WORK AS A KEY FACTOR

Hammerschlag N^{a,b}, Souza C^{b,c}, Cornacchioni AL^{b,d,e,f}, Pasquini R^{b,g}, Tabak D^{b,h}, Spector N^{b,i,j}, Steagall M^b

^a Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), São Paulo, SP, Brazil

^b Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia (ABRALE), São Paulo, SP, Brazil

^c Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^d Instituto de Tratamento de Câncer Infantil (ITACI), São Paulo, SP, Brazil

^e Instituto da Criança, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^f Hospital de Clínicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^g Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

^h Centro de Tratamento Oncológico (CENTRON), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

ⁱ Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^j Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Objectives: This study aimed to evaluate the quality of life (QoL) of patients receiving treatment by the public health system in Brazil for chronic myeloid leukemia (CML), a disease requiring daily and strict compliance to oral medication and regular blood and bone marrow controls, which are invasive exams. **Methods:** Between 2008 and 2010, patients with CML were surveyed by telephone. QoL was evaluated by the functional assessment of chronic illness therapy (FACIT) tool. **Results:** The mean QoL among CML patients was 92.53 (out of 124 total points) in the trial outcome index, 78.50 (out of 108) in the general total score, and 130.43 (out of 176) in the leukemia total score. Patients who had the prescriptions recently changed presented better QoL general score ($p = 0.012$) and leukemia-specific score ($p = 0.043$) than those who remained under the same treatment. Imatinib was not associated with this change in QoL ($p > 0.797$). The more the patient felt able to work, the higher the scores in all three FACIT scales ($p < 0.001$, Spearman's correlation). The use of imatinib ($p = 0.012$) was associated with a better ability to work, while chemotherapy ($p = 0.017$) and the use of hydroxyurea ($p = 0.001$) were inversely associated with work capability. **Conclusions:** A recent change in medication can improve quality of life. The ability to work is an important component of QoL of patients with CML. Ability to work should be specifically considered in CML treatment.

446. ANÁLISES DE MUTAÇÕES NO GENE JAK2 EM PACIENTES COM DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE POLICITEMIA VERA ATENDIDOS EM UM ÚNICO CENTRO DA CIDADE DE JUIZ DE FORA

Freitas RM, Neto AEH, Atalla A, Santos MO, Nascimento LM, Guia F, Maranduba CC

Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: As neoplasias mieloproliferativas (NMP) agrupam a policitemia vera (PV), a trombocitemia essencial e a mielofibrose primária em um subgrupo chamado de BCR-ABL negativo. De acordo com os critérios adotados para o diagnóstico das NMP, a presença da mutação JAK2V617F é considerada critério maior para o diagnóstico do subgrupo BCR-ABL negativo e representa um marcador clonal. **Objetivo:** Investigar a frequência da mutação JAK2V617F em pacientes diagnosticados clinicamente com PV, do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, incluindo a pesquisa de outras possíveis mutações, menos frequentes, no éxon 12 do gene JAK2, e correlacioná-la com suas principais características clínicas. **Material e métodos:** Foram estudados 26 pacientes, com ao menos um critério maior e um menor, segundo as orientações diagnósticas para PV pela OMS, 2008. Para a extração de DNA do sangue total foram usadas soluções salinas preparadas em laboratório. O material genético foi quantificado por Nanodrop2000 (Thermo®), com apenas 1 uL da solução. Todas as amostras de DNA foram genotipadas para a mutação JAK2V617F por uma reação em cadeia de polimerase (PCR) alelo-específico (AE). Os amplicons foram analisados em gel de agarose 2%. Um controle interno normal foi usado para validar a reação. Amostras que foram negativas para essa mutação foram sequenciadas com protocolo padrão. **Resultados:** Das 26 amostras coletadas, 24 (92,3%) foram positivas para a mutação p.V617F, apresentaram dois fragmentos na altura de 364 e 203 pares de base (pb) e indicaram os alelos tipo selvagem e mutado, respectivamente. Duas (7,7%) foram negativas, apareceu apenas uma banda na altura de 364 pb. A partir desse resultado, fizemos o sequenciamento automático para verificar a presença de outras mutações que poderiam estar presentes no éxon 12 do gene. O sequenciamento de ambas as amostras não revelou alteração na sequência de nucleotídeos para o éxon 12 do gene JAK2. Dos 26 pacientes sete (27%) apresentaram eventos trombóticos, todos positivos para JAK2V617F. **Discussão:** A porcentagem de detecção da mutação JAK2V617F (92,3%) está de acordo com dados apresentados na literatura (95-98%) para os casos p.V617F positivos. Outras possíveis mutações no gene JAK2 foram investigadas, mas não foi detectada qualquer alteração. No entanto, não podemos descartar o diagnóstico clínico de PV, pois pode haver outros genes envolvidos. **Conclusão:** A presença de eventos trombóticos em 27% dos pacientes, todos JAK2 positivo, chama a atenção para essa que está entre as principais complicações da PV. Estudos sugerem que pacientes com NMPs que têm a mutação JAK2V617F têm um

risco maior para tais complicações trombóticas, possivelmente por causa do aumento plaquetário e da ativação dos leucócitos.

447. ANEMIA EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA EM FASE CRÔNICA APÓS 2 ANOS DE TRATAMENTO COM IMATINIBE

Moura MS, Benevides TCL, Delamain MT, Duarte GBO, Assunção PM, Oliveira LC, Percout PO, Dias MA, Lorand-Metze I, Pagnano KBB

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

Introdução: A incidência de anemia grau 3 (nível de hemoglobina [Hb] 6,5-8 g/dL) ou grau 4 (nível de Hb < 6,5 g/dL) é de 3% em pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) em fase crônica (FC) recém-diagnosticada tratados com imatinibe em primeira linha, após um tempo mediano de seguimento de 19 meses, e 7% em pacientes tratados com imatinibe após falha ao Interferon- α . No entanto, há poucos dados sobre o desenvolvimento de anemia após um período maior de acompanhamento e de suas causas. **Objetivo:** Avaliar a incidência de anemia em pacientes com LMC em FC após dois ou mais anos de tratamento com imatinibe e identificar outras causas de anemia nessa população. **Material e métodos:** A anemia foi graduada de acordo com os critérios de terminologia comum para eventos adversos (Instituto Nacional do Câncer – Versão 4.0). Foi avaliado também o grau de toxicidade renal após dois anos de terapia. Entre 2003 e 2010, 157 pacientes com LMC foram tratados com imatinibe 400-800 mg. Foram excluídos 60 pacientes por tempo de terapia inferior a dois anos, evolução para crise blástica ou má adesão. Foram analisados 97 pacientes. Os níveis de Hb (g/dL) foram avaliados no diagnóstico, após dois anos de tratamento, e o nível mais baixo de Hb até a última avaliação após dois anos. **Resultados:** A média de idade foi de 53 anos (24-86); 55,7% eram do sexo masculino e 38,1% sem outras comorbidades. Receberam interferon 21 casos e um recebeu bosutinibe previamente ao imatinibe. Respostas ao tratamento: 87 pacientes (91,5%) obtiveram resposta citogenética completa, 41 (42,3%) resposta molecular maior e 41 (42,3%) resposta molecular completa. A média de Hb foi de 11,7, 12,6 e 12,9 g/dL no diagnóstico, antes de iniciar o imatinibe e aos dois anos de tratamento, respectivamente; 78 casos (80,4%) apresentaram anemia após o segundo ano de tratamento: 80,8% grau 1, 17,9% grau 2 e 1,3% grau 3. Desses, em 66,6% ($n = 52$) não foi possível identificar uma causa que justificasse a anemia e em 13 casos (16,7%) anemia secundária a: ferropenia ($n = 6$, um caso com gastrite erosiva [Helicobacter Pylori positivo], um com neoplasia intestinal e um com disfunção renal concomitante), hipotireoidismo ($n = 2$), deficiência de vitamina B12 ($n = 2$), HIV/AIDS ($n = 1$), tuberculose pulmonar ($n = 1$) e insuficiência renal ($n = 1$). Apresentaram normalização dos níveis de Hb sem intervenção médica 28 (35,9%) pacientes e a maioria (51,3%) ainda persiste com anemia até a data do último seguimento. Seis (7,7%) casos apresentaram resolução da anemia após a mudança do tratamento para um inibidor de segunda geração e três apresentaram melhora clínica após o tratamento direcionado para a causa. Aos dois anos de tratamento foi observada toxicidade renal em 8,9% dos casos, a maioria leve, e no último seguimento em 23,2% dos casos. **Conclusão:** A presença de anemia é frequente no paciente com LMC tratado com imatinibe em longo prazo, embora na maior parte dos casos seja leve. Acompanhamento hematológico regular é necessário para identificar causas não relacionadas à LMC que possam ser corrigidas ou, se relacionadas com o uso de imatinibe, alteração da dose ou a mudança de tratamento. Deve-se ressaltar a importância de investigar as causas secundárias para a anemia, especialmente em pacientes com boa adesão ao tratamento e resposta terapêutica satisfatória.

448. PANORAMA GENÔMICO DA PROGRESSÃO LEUCÊMICA EM NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS

Silva JPA^a, Bonamino MH^a, Daumas AH^b, Solza C^c, Gouveia ME^b, Monte-Mor BCR^a, Zalberg I^a, Braggio E^d

^a Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

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

^d Mayo Clinic, Phoenix, United States

Introdução: As neoplasias mieloproliferativas crônicas (NMP) clássicas são caracterizadas por proliferação hematopoiética mieloide anormal e

presença da mutação p.Val617Phe no gene JAK2 (JAK2V617F) em 95% policitemia vera (PV) e 50% trombocitemia essencial (TE) e mielofibrosc (MF) e de 85% dos pacientes JAK2V617F negativos apresentarem inserções e deleções (INDELs) no gene da calreticulina (CALR). As NMP podem evoluir para MF secundária (30%) ou para leucemia aguda (7%). Não existem, até o momento, marcadores preditivos da progressão para leucemia aguda (LA). Técnicas genômicas de alta resolução possibilitam sequenciar e avaliar a variação no número de cópias de vários genes em centenas de pacientes ao mesmo tempo. **Objetivo:** Investigar o papel de novos biomarcadores na progressão leucêmica secundária à NMP com técnicas genômicas de alta resolução (aCGH-array comparative genomic hybridization e WES-whole exome sequencing). **Material e métodos:** A partir de uma coorte de 162 pacientes com NMP identificamos oito que progrediram para LA. Todos foram triados para busca de mutações em JAK2 (PCR-alelo específico-V617F; Sanger éxon 12), CALR (análise de fragmentos), MPL (HRM). Dos oito pacientes que progrediram para LA, cinco com TE tinham amostra da fase de NMP e LA e foram analisados por aCGH e WES ao diagnóstico e na progressão leucêmica. **Resultados:** A partir da subcoorte de 162 pacientes caracterizamos que 92% PV, 46% TE e 48% MF apresentaram a mutação JAK2V617F. Em pacientes com PV e JAK2V617F negativos não foram encontradas mutações nos éxons 12 e 14 de JAK2. Em contraste, em 3/45 pacientes com TE JAK2V617F negativos foi detectada a mutação (p.Trp515Leu) em MPL. Em 56% (30/54) dos pacientes V617F negativos com TE e MF houve mutações em CALR. Em 3/5 pacientes com amostras ao diagnóstico e da fase LA foram encontradas alterações cromossômicas identificadas por aCGH; Duas alterações (+2p e fel[5q]) foram recorrentes (2/3 pacientes) somente na progressão leucêmica. A análise dos genes localizados nas regiões alteradas mostrou na região del5q genes envolvidos na via de sinalização JAK-STAT e na hematopoese. No chr 2, com ganho de cópia, estão posicionados genes de regulação epigenética. A análise de WES mostrou a presença de mutações *drivers*, tais como: um paciente positivo para JAK2V617F, outro para SF3B1 (p.Lys700Glu) (ARSA-t) e o terceiro CALR (p.Lys385fs*47) e perda monoalélica de TP53 não associada à mutação no alelo remanescente. Alterações em TP53, específicas da fase de LA, foram reveladas por WES em 2/3 pacientes. A extensão desse trabalho para uma coorte JAK2V617F negativa em amostras da fase MPN mostrou que 7% (3/45) dos pacientes apresentaram mutações em TP53 e nenhuma mutação foi observada em SF3B1. **Conclusão:** Mutações em CALR foram encontradas respectivamente em 54% e 67% de pacientes com TE e MF. O evento de transformação leucêmica mostrou-se bastante heterogêneo do ponto de vista molecular, por causa da quantidade de alterações cromossômicas e mutações encontradas por paciente, sendo a +2p e del(5q) as únicas alterações recorrentes entre os pacientes e especificamente observadas nas amostras da fase aguda. Mutações em TP53 foram observadas preferencialmente associadas à transformação leucêmica, mas também ocorreram desde a fase crônica.

449. FREQUÊNCIA DOS TRANSCRITOS BCR-ABL EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Vasconcelos AP^a, Melo FCBC^b, Neves WBD^b, Melo RAM^c

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

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

^c Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa crônica caracterizada por expansão clonal da célula-tronco hematopoética. A LMC está relacionada com o cromossomo Filadélfia (Ph), caracterizado pela translocação recíproca t(9;22)(q34;q11), que resulta no oncogene híbrido BCR-ABL. Dois tipos principais de mRNA (b2a2 ou b3a2) podem ser produzidos por esse rearranjo gênico. Estudos têm identificado possível influência desses transcritos no prognóstico da doença, porém não existem estudos locais sobre o tema. A técnica da reação em cadeia da polimerase pela transcrição reversa (RT-PCR) apresenta alta sensibilidade e especificidade para detectar fusões gênicas e identificar os tipos de transcritos. **Objetivo:** Detectar os diferentes tipos de transcritos do rearranjo gênico BCR-ABL em pacientes com LMC e verificar possíveis associações com variáveis de importância prognóstica. **Material e métodos:** O estudo incluiu 109 pacientes com LMC de ambos os sexos diagnosticados na Fundação HEMOPE entre janeiro de 2009 e dezembro de 2013. Após consentimento informado foram coletadas amostras de sangue periférico e/ou medula óssea para a extração do RNA e análise

pela técnica RT-PCR baseada no protocolo internacional BIOMED-1. Os dados clínico-laboratoriais foram obtidos em consulta aos prontuários clínicos e base de dados institucional. **Resultados:** Do total de pacientes ao diagnóstico a relação masculino:feminino foi de 1,5:1 e a mediana da idade 48 anos, com extremos de 18 e 92. A maioria dos pacientes se encontrava na fase crônica da doença (94%) e nos grupos 1 e 2 de menor risco (85%). Em relação aos dados laboratoriais, todos os pacientes tinham leucocitose, dos quais 89% leucocitose acima de 50x10⁹/L e 79% com blastos visíveis. A anemia esteve presente em 66% dos casos e plaquetose em 43%. O rearranjo BCR-ABL foi encontrado em todas as amostras analisadas e com a seguinte distribuição dos transcritos: b3a2 (74%), b2a2 (25%) e dupla positividade (1%). Os resultados mostraram uma associação estatisticamente significativa entre o transcrito b3a2 e níveis elevados de plaquetas e o b2a2 com níveis elevados de leucócitos, em concordância com dados publicados. **Conclusão:** O estudo permitiu determinar a frequência dos tipos de transcritos b3a2, b2a2 e b2a2/b3a2 do rearranjo gênico BCR-ABL em pacientes com LMC. A associação encontrada pode ser relevante para estratificar os pacientes quanto ao prognóstico.

450. GENERIC IMATINIB VERSUS GLIVEC: EFFECTIVENESS AND TOXICITY ANALYSIS

Seguro FS^a, Medina AB^b, Abdo ANR^b, Atanazio M^a, Bendit I^a, Llacer PD^a

^a Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Instituto do Câncer do Estado de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Since December of 2012, the Brazilian government is providing generic imatinib for the treatment of patients with chronic myeloid leukemia (CML) in public hospitals. Two state-owned institutions (Farmanguinhos and Instituto Vital Brasil), along with five private companies, are responsible for the production of the drug. In five years, it is estimated that the government will save US\$ 153 million (R\$ 337 million). The efficacy of generic imatinib has been questioned in the last few years, with contradictory results. This report describes the authors' experience at Instituto do Câncer do Estado de São Paulo with first-line generic imatinib in newly diagnosed patients with chronic phase CML. **Methods:** The records of 18 patients with chronic phase CML treated with generic imatinib since diagnosis were reviewed. The control group were patients treated with first-line Glivec® (Novartis) for at least one year or those who switched to second-generation inhibitors due to toxicity or imatinib failure (n = 22). The molecular and cytogenetic responses were analyzed in accordance with the LeukemiaNet 2013 recommendations. Toxicity, dose interruptions or reductions, and disease progression were also evaluated. **Results:** Complete cytogenetic response (CCR) was achieved by 55% (n = 10) of the patients who received generic imatinib and by 72% (n = 16) of the patients treated with Glivec®, but not all patients with generic imatinib were followed-up for one year. Optimal molecular response at three, six, and 12 months of treatment were similar in both groups. **Discussion:** In the authors' experience, generic imatinib did not show inferior response rates in the first year of treatment when compared with Glivec®. TKIs are the mainstay of CML treatment, and the current costs of these drugs are high; the launch of generics might reduce health care costs. Among this patient cohort, the generic medication was at least non-inferior to the original molecule regarding efficacy and tolerability when used in the upfront setting, as well as when used subsequently. Prospective randomized trials with larger number of patients are needed to address the efficacy of IM generics in patients with CML.

451. JAK2 V617F MUTATION AND JAK2 46/1 HAPLOTYPE – CORRELATION WITH BLOOD CELL COUNTS PARAMETERS IN MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS IN BRAZILIAN PATIENTS

Macedo LC^a, Quinteiro FC^a, Santos BC^a, Silva SPE^a, Pagnano KBB^b, Almeida D^b, Rodrigues C^a, Baraldi EC^a, Zacarias JMV^a, Sell AM^a, Visentainer JEL^a

^a Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brazil

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^c Hospital do Câncer de Londrina, Londrina, PR, Brazil

Chronic myeloproliferative neoplasms (cMPNs) are disorders characterized by the clonal proliferation of a single hematopoietic stem cell, resulting in increased peripheral blood count of mature cells. The

most common BCR-ABL negative cMPNs are polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), and primary myelofibrosis (PMF). In recently published data, inherited genetic factors were suggested to be important factors in the pathways of cMPN oncogenesis. The aim of this study was to verify the association between the presence of the JAK2 46/1 haplotype with JAK2V617F mutation and determine possible association with hematological parameters in BCR-ABL-negative cMPNs in this population. Blood samples were collected from 142 patients of three Brazilian hospitals who had previously been diagnosed with BCR-ABL-negative cMPNs, according to 2008 WHO diagnostic criteria. Blood samples from 126 blood donors were used as controls. Genotypes for the JAK2V617F mutation and rs10974944 SNP of the 46/1 haplotype were performed using PCR-RFLP. The statistical analysis was performed by the chi-squared test and the Mann-Whitney U-test or the Kruskal-Wallis test. JAK2V617F mutation was detected in 113 (80.15%) patients, increasing across the rs10974944 germline genotype ($p < 0.0001$, OR = 2.25, 95% CI = 1.56-3.25). JAK2V617F positives versus negative had higher erythrocyte ($p = 0.005$), hemoglobin ($p = 0.02$), hematocrit ($p = 0.01$), and leucocyte ($p < 0.0001$) counts, but not higher platelet counts. This study also compared the JAK2 V617F mutation status in each MPN disease entity; PV, ET, and PMF were not significantly different between the MPNs patients with JAK2V617F-positive and JAK2V617F-negative with hematological parameters. Erythrocytes counts, hemoglobin levels, and hematocrit levels were higher in PV patients compared with the others JAK2V617F-positive cMPNs. However, when entities with negative JAK2V617F mutation were compared, only hemoglobin and hematocrit levels were increased in PV and ET compared with MF ($p = 0.02$ and $p = 0.005$, respectively). This study observed significant association between the G allele frequency in all MPN patients and JAK2V617F-positive MPN patients ($p < 0.0001$, OR 2.25, 95% CI = 1.56-3.25). These patients with G allele frequency and JAK2V617F-positive have an increased hemoglobin significant ($p = 0.04$) regarding the presence of the C allele, although when the presence of the G allele and JAK2 V617F-negative was associated, this association was not confirmed, and an association with another parameter causing an increase in hematocrit ($p = 0.02$) compared to C allele was found. When the genotypes GG vs. GA + AA were compared with the presence of the JAK2V617F mutation, a significant association with an increased number of erythrocytes ($p = 0.03$) and hemoglobin levels ($p = 0.03$) in comparison with other genotypes was found. Nevertheless, the comparison of genotype GG versus GA + AA in patients with JAK2V617F-negative took an increased hematocrit ($p = 0.005$) in comparison with other genotypes, confirmed the association of allele G with JAK2V617F. These results suggest a sequential model for myeloproliferative cancer that confirms the rs10974944 germline genotype predisposes to development of the JAK2V617F somatic mutation. It was also demonstrated that JAK2V617F cMPNs patients have different blood cell counts characteristics.

452. A INIBIÇÃO DE STATHMIN 1 POTENCIALIZA A RESPOSTA AO RUXOLITINIB EM CÉLULAS JAK2 V617F POSITIVAS

Machado-Neto JA^a, Campos PM^a, Favaro P^{a,b}, Lazarini M^a, Duarte ASS^a, Lorand-Metze IA^a, Saad STO^a, Traina F^{a,c}

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema, SP, Brasil

^c Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A via de sinalização JAK/STAT é constitutivamente ativada nas neoplasias mieloproliferativas (NMP): trombocitemia essencial (TE), policitemia vera (PV) e mielofibrose primária (MFP). Ruxolitinib é um inibidor seletivo de JAK1/2 aprovado para tratamento da MFP de risco intermediário ou alto, é bem tolerado, reduz citocinas inflamatórias e esplenomegalia, ameniza sintomas constitucionais, mas não reverte a fibrose na medula óssea e sugere a necessidade de novas abordagens terapêuticas. No núcleo, STAT3 age como fator de transcrição. No citoplasma, STAT3 ativado interage e inibe Stathmin 1, a qual atua como proteína desestabilizadora de microtúbulos e participa da proliferação celular. Paclitaxel é

um composto antineoplásico capaz de induzir a polimerização dos microtúbulos e inibir a atividade de Stathmin 1. Nós hipotetizamos que um efeito indesejado do Ruxolitinib poderia ser a ativação de Stathmin 1 como consequência da inibição de STAT3 e a inibição de Stathmin 1 associada ao Ruxolitinib seria interessante em NMP. **Objetivo:** Investigar a expressão de Stathmin 1 em células CD34+ de pacientes com NMP e o efeito do silenciamento de Stathmin 1 e da inibição da estabilidade de microtúbulos induzida pelo Paclitaxel em células JAK2^{V617F} tratadas com Ruxolitinib. **Material e métodos:** Células CD34+ foram obtidas de sangue periférico de doadores normais ($n = 22$) e pacientes com NMP ($n = 82$; TE = 34, PV = 23, MFP = 25; JAK2^{V617F} = 52, JAK2^{wt} = 30, CALR^{mut} = 19, CALR^{wt} = 54). As expressões gênica e proteica foram avaliadas por PCRq e Western blot. Em células HEL (JAK2^{V617F} positivas), Stathmin 1 foi silenciado por shRNA, a proliferação, a clonogenicidade e a apoptose foram avaliadas por MTT, formação de colônias, Anexina V e ativação de Caspase 3. Células HEL foram tratadas ou não com Paclitaxel (5 e 10 nM). Todas as condições foram avaliadas na presença ou ausência do Ruxolitinib (100 e 300 nM). A análise estatística foi feita pelo teste t de Student ou Mann-Whitney. **Resultados:** A expressão de Stathmin 1 foi maior em células CD34+ de pacientes com MFP comparada a doadores normais ($p = 0,005$); mas foi semelhante entre doadores normais, TE e PV e entre pacientes JAK2^{wt} vs. JAK2^{V617F}, e CALR^{wt} vs. CALR^{mut}. Em células HEL, o silenciamento de Stathmin 1 reduziu a proliferação celular e o crescimento clonal ($p < 0,05$). Apesar da inibição de Stathmin 1 isolada não modular a apoptose, ela aumentou a apoptose induzida pelo Ruxolitinib ($p < 0,01$). A depleção de Stathmin 1 resultou em estabilidade dos microtúbulos. O tratamento com Ruxolitinib induziu instabilidade dos microtúbulos e inibição da atividade de JAK2 e STAT3. O silenciamento de Stathmin 1 em associação com Ruxolitinib preveniu a instabilidade dos microtúbulos induzida por Ruxolitinib. Para inibição farmacológica de Stathmin 1, as células foram tratadas com Paclitaxel em associação ou não com Ruxolitinib. O tratamento combinado resultou em aumento significativo da apoptose ($p < 0,01$). A capacidade do Paclitaxel inibir Stathmin 1 foi confirmada pelo aumento da fosforilação de Stathmin 1 na serina 16 (um sítio inibitório). **Conclusão:** Stathmin 1 é altamente expresso em MFP e possivelmente participa da sinalização anormal induzida pela mutação JAK2^{V617F}. A inibição de Stathmin 1 ou da instabilidade dos microtúbulos pode melhorar a resposta ao Ruxolitinib em pacientes com NMP JAK2^{V617F} positivos. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

453. EXPRESSÃO DOS GENES ABCF2 E PAWR EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA RESISTENTES AO DASATINIBE

Ribeiro BF^a, Ferreira R^a, Albuquerque DM^a, Silveira RA^a, Vergilio B^a, Fachel AA^b, Souza CA^a, Verjovski-Almeida S^b, Pagnano KBB^a

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

^b Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Os genes ABCF2 e PAWR foram identificados como diferencialmente expressos em pacientes com LMC pré e pós-tratamento com dasatinibe em análise de microarranjos. No entanto, ainda não existem dados sobre sua importância na patogênese da LMC. O gene ABCF2 é um membro da superfamília de transportadores ABC (ATP binding cassette). Estudos com câncer colorretal e de mama mostraram associação entre a baixa expressão do ABCF2 com pior prognóstico e resistência à quimioterapia. O gene PAWR é um supressor tumoral essencial para a apoptose e foi detectado como hipoexpresso em vários tipos de tumores. Exertos ectópicos com alta expressão do PAWR mostraram efeitos antitumorais em células cancerígenas *in vitro* e em xenografts de câncer de próstata *in vivo*. **Objetivo:** Analisar o perfil de expressão dos genes ABCF2 e PAWR em pacientes com LMC tratados com dasatinibe (responsores e não responsivos). **Material e métodos:** RNA foi extraído de células mononucleares de amostras de sangue periférico de 28 pacientes com LMC tratados com dasatinibe (16 responsivos e 12 não responsivos). Após síntese de cDNA, a expressão dos genes ABCF2 e PAWR foi analisada por PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR). Os genes ACTB e GAPDH foram usados como controles endógenos. Os pacientes foram classificados como não responsivos ($n = 16$) se apresentassem

critério de falha de acordo com as definições do European Leukemia Net 2013 e responsivos ($n = 12$) se tivessem resposta citogenética completa e resposta molecular maior (níveis de transcritos BCR-ABL/ABL $\leq 0,1\%$ na escala internacional). Duas amostras foram excluídas para a análise do PAWR e uma para o ABCF2 por causa de razões técnicas. Os pacientes responsivos estavam em fase crônica (FC); mediana de idade de 45 anos (18-73); Sokal ao diagnóstico: 9% baixo, 55% intermediário e 36% alto risco; duração mediana do tratamento com dasatinibe de 30 meses (8-90). Características dos pacientes não responsivos: mediana de idade de 64 anos (20-77); dois pacientes apresentavam evolução clonal e dois mutações no BCR-ABL (F317L, M244V); oito estavam em FC, três em fase acelerada e um em crise blástica; Sokal: 29% baixo, 43% intermediário e 29% alto risco; mediana de tratamento com dasatinibe 25 meses (1-102). O programa GeNorm foi usado para estimar a expressão gênica em unidades arbitrárias (UA). Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão e os dados de cada grupo (responsivos vs não responsivos) foram comparados com o teste não paramétrico de Mann-Whitney, com significância estabelecida de $p < 0,05$, com o programa GraphPad Prism. **Resultados:** A expressão de ABCF2 foi significativamente menor nos pacientes resistentes ao dasatinibe do que nos pacientes responsivos ($p = 0,003$) e a expressão de PAWR foi diminuída nos não responsivos, embora sem significância estatística ($p = 0,08$). Não houve diferença de expressão dos dois genes em relação à fase da doença (crônica vs avançadas) ($p = NS$). **Conclusão:** Os resultados sugerem que a expressão diminuída dos genes ABCF2 e PAWR pode estar relacionada à resistência ao dasatinibe e suas funções devem ser mais bem exploradas. Entender os mecanismos de resistência pode contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento de casos resistentes.

454. RESPOSTAS MOLECULARES AOS 3 E 6 MESES SÃO COMPLEMENTARES E PREDITIVAS DE DESFECHOS DE LONGO PRAZO EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA TRATADOS COM INIBIDORES DE TIROSINA QUINASE DE SEGUNDA GERAÇÃO APÓS FALHA AO IMATINIBE

Boquimpani C^a, Schaffel R^b, Biasoli I^b, Bendit I^c, Spector N^b

^a Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A resposta molecular precoce é preditiva dos desfechos clínicos de longo prazo em pacientes com leucemia mieloide crônica em tratamento de primeira linha com inibidores de tirosina quinase. No entanto, há controvérsias sobre o valor das respostas moleculares aos três e seis meses no tratamento de segunda linha, após falha ao imatinibe. **Material e métodos:** Foram estudados 115 pacientes resistentes ao imatinibe, tratados com nilotinibe ou dasatinibe. **Resultados:** Três grupos foram delineados de acordo com os níveis de transcritos BCR-ABL¹ aos três meses: $< 1\%$, 1 a 10% e $> 10\%$. Os desfechos alcançados em três anos de tratamento em relação aos níveis de BCR-ABL¹ aos três meses foram, respectivamente: sobrevida global (SG) 96%, 92% e 77%, $p = 0,03$; sobrevida livre de progressão (SLP) 96%, 89% e 78%, $p = 0,05$, sobrevida livre de falha (SLF) 89%, 56% e 21%, $p < 0,001$ e incidência cumulativa de resposta molecular maior (RMM) 91%, 47% e 22%, $p < 0,001$. Dois grupos com desfechos clínicos distintos foram claramente identificados de acordo com os níveis de BCR-ABL¹ aos seis meses: $< 1\%$ e $\geq 1\%$. Pacientes que alcançaram $< 1\%$ obtiveram desfechos substancialmente superiores aos três anos: SG (94% vs 84%, $p = 0,05$), SLP (94% vs 84%, $p = 0,05$), SLF (82% vs 28%, $p < 0,001$) e incidência cumulativa de RMM (83% vs 16%, $p < 0,001$). Aproximadamente metade dos pacientes (46%) obteve resposta ótima aos três e aos seis meses ($< 10\%$ aos três meses e $< 1\%$ aos seis meses), e apresentaram excelente SLF quando comparados aos 29% dos pacientes com má resposta nos dois momentos (84% vs 19%, $p < 0,001$). Nos 25% restantes, os resultados em três e seis meses foram conflitantes. Entre pacientes com níveis de BCR-ABL¹ $\geq 10\%$ em três meses, 17% (4/23) alcançaram resultado ótimo aos seis meses e sua SLF em três anos foi de 50%. Por outro lado, 30% (13/42) dos pacientes com resposta ótima aos três meses não alcançaram níveis $< 1\%$ aos seis meses e sua SLF em três anos foi de apenas 38%. **Conclusão:** As respostas moleculares aos três e seis meses são preditivas e se complementam na avaliação dos desfechos de longo prazo nos pacientes em segunda linha de tratamento para LMC.

455. LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA REFRACTÁRIA – RELATO DE CASO

Pacca RL, Ferreira TN, Euflazino JF, Silva JBCB

Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: O tratamento da leucemia mieloide crônica (LMC) visa à eliminação das células que têm o cromossomo Ph e, com isso, remissão citogenética e molecular. Os fármacos usados são os inibidores de tirosina quinase (ITQ), como imatinibe, dasatinibe e nilotinibe, os dois últimos de segunda geração. No entanto, alguns pacientes apresentam resistência primária e secundária por diversas causas, como mutações no gene BCR-ABL, mutação T315I, aumento da expressão de tirosina quinase por amplificação genética, expressão exacerbada de tirosina quinases da família Src, expressão exacerbada de proteínas responsáveis por efluxo, como a P-glicoproteína, além de fatores fisiológicos do paciente e evolução clonal. **Objetivo:** Relatar caso de paciente com diagnóstico de LMC, que ao longo do tempo se mostrou resistente ao tratamento e necessitou de transplante de células-tronco alogênico. **Relato de caso:** M.C.S., sexo feminino, 33 anos, negra, iniciou acompanhamento com equipe da Hematologia de hospital universitário de Campinas (SP) em outubro de 2004 por causa de anemia desde os 11 anos, além de leucocitose M.C.S. desvio escalonado. No início de 2005, foi submetida à biópsia de medula óssea, cujo resultado foi compatível com LMC e confirmado com cariótipo com cromossomo Ph - t (9;22) - da mesma ocasião. Desde então, fez uso de hidroxiureia (até confirmação diagnóstica), seguida de imatinibe, e em 2012 (após sete anos do diagnóstico), como houve perda de resposta citogenética e hematológica, tal medicamento foi trocado por dasatinibe. Esse último também não levou a paciente a qualquer tipo de resposta e a doença progrediu para crise blástica, do tipo mieloide. Recebeu então quimioterapia de indução e consolidação padrão para leucemia mieloide aguda e foi encaminhada para serviço de transplante de medula óssea. Em janeiro de 2014, apresentou plaquetopenia sintomática e necessitou de internação. Após recuperação, encontrou-se doador não aparentado compatível e em junho de 2014 foi submetida a transplante de células-tronco alogênico. **Discussão:** A paciente do caso relatado foi diagnosticada com 33 anos, o que foge ao padrão da LMC, já que essa acomete predominantemente homens de 65 anos. A paciente fez uso de imatinibe ao longo de sete anos, somente após esse período se mostrou resistente ao tratamento, o que caracterizou a resistência secundária. A troca do fármaco, a fim de uma nova resposta, foi ineficiente. De acordo com a literatura, 84% dos pacientes refratários ao imatinibe responderam bem ao dasatinibe. **Conclusão:** A crise blástica apresentada é um evento raro, principalmente em virtude do uso de ITQ de segunda geração (dasatinibe). Portanto, por causa da falta de resposta e da aceleração da progressão da doença, foi considerado o transplante de células-tronco alogênico.

456. DIFFERENTIAL EXPRESSION OF EIF4E, EIF4EBP, RPS6K, RPTOR E MTOR IN MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

Nunes SN^a, Tognon R^a, Kashima S^b, Covas DT^b, Santana M^c, Souto EXc, Simões BP^d, Souza AM^a, Figueiredo LP^d, Traina F^d, Perobelli L^c, Castro FA^a

^a DACTB, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto, Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^c Hospital de Transplantes do Estado de São Paulo Doutor Euryclides de Jesus Zerbini, São Paulo, SP, Brazil

^d Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Background: mTOR is a serine/threonine kinase classified as a phosphatidylinositol 3-kinase-related protein family that regulates protein synthesis, cell growth, proliferation, and gene transcription. It was postulated that m-TOR pathway deregulation might contribute to myeloproliferative neoplasm (MPN) pathogenesis. MPNs are hematological diseases characterized by myeloproliferation/myeloaccumulation of mature cells without a specific stimulus. Among the MPNs studied were primary myelofibrosis (PMF), essential thrombocythemia (ET), and polycythemia vera (PV). This study evaluated the expression of mTOR pathway members eIF4E, EIF4EBP, RPS6k, m-TOR and RPTOR in PMF, ET, and PV patients and controls. **Aims:** To quantify the eIF4E, EIF4EBP, RPS6K, mTOR,

and *Rptor* RNA expression levels in MPN patient's leukocytes. **Subjects and methods:** 34 PV patients (16 males and 18 females with a mean age of 58.51 years), 50 ET patients (15 males and 35 females with a mean age of 55.07 years), 18 MF patients (14 males and 4 females with a mean age of 60.63 years), and 45 healthy subjects (13 males and 32 females with a mean age of 57.4 years). Peripheral leukocytes were obtained by Haes-Sterilmethode, total RNA was extracted according to Trizol^o method, and a High Capacity[®] Kit was used to synthesize cDNA. The genes expression quantification was performed by real-time PCR. Results were given as 2⁻(Delta Delta Ct) and statistical analyses were conducted by the Mann-Whitney test. **Results:** In ET patients, *RPS6K* and *eIF4E* expression levels were increased (median = 1.067 and 0.262; respectively) in comparison to controls (median = 0.235 and 0.211) ($p \leq 0.0001$ and $p = 0.0245$, respectively). In PV patients, *eIF4E* and *EIF4EBP* expression were increased (median = 2.33 and 2.10; respectively) in comparison to controls ($m = 0.90$ and 0.189) ($p = 0.0024$ and $p = 0.0034$, respectively). In contrast to ET and PV patients, in PMF the *rPTOR* levels was decreased ($m = 0.416$) when compared to controls ($m = 0.651$) ($p = 0.0498$). **Conclusions:** The deregulation of mTOR genes is possibly involved in the molecular modulation of MPN myeloaccumulation. **Funding:** FAPESP grants 2012/13495-5 and 2011/20135-2.

457. MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASM ASSOCIATED WITH HTLV-1 INFECTION: FIRST CASE REPORT OF A PREVIOUSLY UNRECOGNIZED ASSOCIATION

Ciminelli A^a, Carneiro-Proietti AB^b, Romani GM^a, Copin MC^c, Melo F^a, Rezende SM^a

^a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

^b Fundação Hemominas, Belo Horizonte, MG, Brazil

^c Université Lille 1, Lille, France

Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) infects 10 to 20 million people worldwide. In Brazil, it is endemic and considered a public health concern, with infection rates of 1% to 5%. The majority of infected individuals are asymptomatic. However, some can develop HTLV-1-associated diseases, such as myelopathy/tropical spastic paresis (HAM/TSP), infective dermatitis, uveitis, and T-cell leukemia/lymphoma (ATL). The authors report the case of a 39-year-old female who developed severe HAM/TSP secondary to HTLV-1 infection, and later evolved with a chronic, non-progressive pancytopenia, followed by severe thrombocytopenia for the past 11 years. Bone marrow (BM) biopsy showed marked grade 3 fibrosis, hyperplasia of megakaryocytes with atypias, and discrete T-cell lymphocytosis, suggesting a myeloproliferative neoplasia (MPN). However, the patient did not present hepatosplenomegaly, and molecular markers of MPN such as *JAK2* mutations and *BCL-ABL* transcripts were absent. BM immunohistochemistry revealed presence of antibodies against CD2, CD3, CD5, CD4, and CD8 in small lymphocytes, CD61 in megakaryocytes, and absence of CD20, CD30, CD56, CD34, and FOXP3. The association of HTLV-1 infection and other hematological disorders such as immune thrombocytopenia and myelodysplastic syndrome has been reported. However, the authors were unable to find reports on the association of HTLV-1 infection with MPN, although it has been recently demonstrated that the lymphotropic virus can also infect myeloid cells. Based on the patient's medical history, laboratory findings, and BM biopsy with immunohistochemistry, this patient was deemed as an unclassifiable MPN, which could be related to the HTLV-1 infection.

458. GENE ACLY COMO UMA NOVA ABORDAGEM PARA O MONITORAMENTO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Maia AL^{a,b}, Ramos IB^{a,b}, Sarmento CSB^b, Nunes CAM^b, Lemos JAR^{a,b}

^a Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (HEMOPA), Belém, PA, Brasil

^b Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença neoplásica, caracterizada por uma desordem clonal mieloproliferativa, originada de uma célula-tronco hematopoiética anormal que contém o cromossomo Filadélfia (Ph). Esse resulta de uma translocação e origina o gene híbrido BCR-ABL. A proteína química BCR-ABL tem atividade tirosina quinase elevada, responsável pela patogênese da LMC, visto que é essencial para a proliferação celular, pois está ligada às numero-

sas vias de transdução de sinal importante para o crescimento normal de células progenitoras mielóides, como a via PI-3K/Akt. Essa via está ligada à fosforilação da enzima ACLY (ATP citrato liase) envolvida em importantes vias biossintéticas com um papel importante na hematopoiese. Sendo assim, o gene ACLY torna-se um alvo particularmente atraente para o estudo em diversas malignidades. O tratamento da LMC é feito com inibidores das enzimas tirosina quinases e influencia, assim, a expressão do gene ACLY. **Objetivo:** Quantificar a expressão do gene ACLY em células do sangue periférico em pacientes portadores de LMC, para validá-lo como um gene envolvido na resposta ao tratamento com mesilato de imatinibe. **Material e métodos:** Foram usadas 137 amostras de pacientes com LMC (50 responsivos e 72 não responsivos) e 35 amostras controles, para analisar a expressão gênica de cada um por Real Time-PCR Quantitativo a partir do seu cDNA. Os dados obtidos foram analisados com o teste de Mann-Whitney para comparação da expressão gênica entre pacientes e controle, no qual foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$. **Resultados:** As análises revelaram que a expressão do gene ACLY em pacientes está diminuída. A expressão do gene ACLY em pacientes responsivos é semelhante aos controles ($p = 0,10$), enquanto os não responsivos apresentam expressão inferior ($p = 0,043$). Os pacientes responsivos à terapia apresentaram expressão mais elevada do que os não responsivos ($p < 0,0001$). **Conclusão:** Sugerimos que o gene ACLY pode exercer algum papel na boa resposta ao tratamento, visto que os pacientes responsivos têm tendência à normalidade de sua expressão. Portanto, esse gene pode ser um promissor candidato a marcador de controle terapêutico. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Pará (FAPESPA) ICAAF 168/2012.

459. AVALIAÇÃO INDIRETA DA ADESÃO MEDICAMENTOSA DOS PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA TRATADOS COM MESILATO DE IMATINIBE EM GOIÂNIA (GO)

Barbosa ADP, Lemes GA, Cunha LC, Martins MR, Barbosa MS, Dewulf NLS, Barbosa YK, Tavares RS

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: O mesilato de imatinibe (MI) foi o primeiro inibidor de tirosina quinase usado no tratamento da leucemia mieloide crônica (LMC). Apresenta vantagens, como taxas de respostas citogenéticas e moleculares nunca vistas antes, além de uso oral, e permite melhor qualidade de vida aos pacientes. Nesse novo cenário, a LMC passa a ter características de doença crônica e surge outro desafio no tratamento dessa neoplasia, a adesão medicamentosa. **Objetivo, material e métodos:** Avaliar dados de 65 pacientes, em uso de MI, do Ambulatório de LMC do Hospital das Clínicas da UFG, com o intuito de conhecer os dados demográficos dessa população e o grau da adesão ao tratamento, pelo questionário de Morisky. **Resultados:** A amostra apresentou mediana de idade de 53 anos e foi predominantemente masculina (58,5%), com escolaridade abaixo do ensino médio (80%), com companheiro(a) (67,7%), com alguma religião (92,3%), renda familiar superior a dois salários mínimos (56,9%) e profissionalmente inativos (53,8%). Foram considerados menos aderentes 76,9% dos pacientes, 80,4% deles de forma não intencional. A estimativa de não adesão foi significativamente maior nos pacientes com idade até 53 anos ($p = 0,03$) e nos profissionalmente ativos ($p = 0,04$). **Conclusão:** A alta taxa de não adesão, ainda que não intencional, aponta para a necessidade de intervenções que continuamente esclareçam sobre a doença e o medicamento e que motivem os pacientes a aderirem perfeitamente ao tratamento.

460. AVALIAÇÃO INDIRETA DA ADESÃO AO USO DE NILOTINIBE E NASATINIBE DE PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA TRATADOS EM GOIÂNIA (GO)

Barbosa ADP, Lemes GA, Cunha LC, Martins MR, Dewulf NLS, Barbosa MS, Barbosa YK, Tavares RS

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) teve sua história natural bastante alterada com o advento dos inibidores de tirosina quinase (ITK), que atingiram respostas terapêuticas significativamente superiores aos

tratamentos anteriores. Dessa forma, a LMC deixa de apresentar o perfil de doença potencialmente fatal e assume características de doença crônica. Todavia, a adesão ao medicamento está diretamente relacionada ao sucesso da terapia. **Objetivo:** A presente pesquisa analisou o grau de adesão de 41 pacientes com LMC tratados no HC-UFG com ITKs de segunda linha (nilotinibe e dasatinibe) e avaliou as características socioeconômicas dessa população. **Material e métodos:** Questionário socioeconômico e teste de Morisky (TM), um método indireto de avaliação da adesão. **Resultados:** Foi encontrada uma média de idade de 54,5 anos, dado compatível com a literatura. Quanto ao sexo, a população estudada foi predominantemente feminina (55,7%), a maioria dos indivíduos em uso de dasatinibe era mulher (63,1%) e a maioria em uso de Nilotinibe era homem (54,4%), todavia sem diferença significativa. Em relação à escolaridade, 9,8% eram analfabetos (todos em uso de Nilotinibe) e 65,7% estudaram até o ensino médio. Quanto ao estado marital, 44% não apresentavam companheiros (eram solteiros, ou viúvos ou divorciados) e metade estava em uso de dasatinibe e a outra de Nilotinibe. Em relação à procedência, 58,6% residiam na Grande Goiânia e mantinham o padrão de metade dos pacientes em uso de dasatinibe e a outra metade de nilotinibe. A maioria (93,7%) disse preferir alguma crença e 7,3% disseram não ter uma religião (ateus ou agnósticos), todos esses em uso de dasatinibe. Houve alto índice de não adesão (78%), todavia não se evidenciou fator socioeconômico ou demográfico com influência sobre tal comportamento, provavelmente por causa do tamanho limitado da amostra. **Conclusão:** Observou-se um padrão de não adesão predominantemente não intencional, ou seja, a maioria se esquece de tomar o medicamento ou é descuidada com o horário. Tal fato incita a busca de mecanismos que lembrem o paciente de tomar o remédio.

461. LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA: UMA ABORDAGEM TERAPÊUTICA

Nóbrega IBAG^a, Santos TS^b, Santos NS^a, Alencar LCR^a, Ericeira MAL^a, Dumont SVR^a, Abreu KC^a, Mendes MVC^a, Nicolau DI^a

^a Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, MA, Brasil

^b Universidade Ceuma, São Luís, MA, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é doença clonal que se origina de célula progenitora multipotente que sofreu mutação. Sua fisiopatologia se baseia na presença do cromossomo Filadélfia, cujo resultado é a formação de uma proteína com atividade tirosino quinase aumentada que passa a transduzir sinais constitutivamente para a proliferação celular. Constitui-se inicialmente de uma fase crônica mais prolongada, seguida de uma fase acelerada e, advém da crise blástica habitualmente fatal. Entre as opções terapêuticas disponíveis para os pacientes com LMC estão a hidroxiureia, o interferon- α , o transplante de células-tronco hematopóéticas e o mesilato de imatinibe, que mudou completamente a abordagem terapêutica dessa doença, por se tratar de um medicamento alvomolecular específico, que inibe seletivamente a proliferação e induz à apoptose nas linhagens celulares e impede a tirosino quinase. **Objetivo:** Analisar as abordagens terapêuticas empregadas atualmente em pacientes acometidos por leucemia mieloide crônica. Identificar as principais terapêuticas usadas no tratamento LMC e seus benefícios. **Material e métodos:** Estudo de revisão de literatura que consistiu em artigos retirados das bases de dados SciELO, LILACS e MEDLINE publicados de 2006 a 2014 que abordavam o tema leucemia mieloide crônica. Foram avaliados conceito, descrição da doença, diagnóstico clínico e tratamentos usados na atualidade. **Resultados:** A LMC é subdividida de acordo com os exames clínicos e laboratoriais. No início é de progressão lenta, momento importante para o início do tratamento, uma vez que pode evoluir. Os passos iniciais da terapia são a estabilização das células sanguíneas, a resposta hematológica, os sintomas da doença e a citogenética, essa baseada na redução ou eliminação de células do cromossomo Ph+. Entre os tratamentos medicamentosos encontra-se o mesilato de imatinibe, que demonstrou resultados promissores para os pacientes. O MI primeira linha de escolha tem um alto nível de atividade terapêutica e baixa toxicidade, reduz a quantidade de células leucêmicas na fase crônica, prolonga a sobrevida em comparação com outros agentes e é capaz de produzir uma remissão citogenética completa. Porém, se houver a interrupção do tratamento, os pacientes podem recidivar e, como consequência, progredir até a fase terminal da doença. Apesar dos avanços obtidos com o uso do MI, pode, ocorrer a resistência clínica depois da administração regular do fármaco e o encontro de células positivas na medula óssea e no sangue periférico de alguns pacientes. Nesse caso usa-se a segunda geração de me-

dicamentos antitirosina quinase como opção importante para casos de falha, resistência ou intolerância. **Conclusão:** A sinalização do oncogene tem uma função causal na LMC com cromossomo Ph+. Foi comprovado por evidência clínica que a inibição desse gene é a terapia mais eficaz para essa neoplasia. Um progresso revolucionário no tratamento da LMC foi conquistado com o surgimento do inibidor da tirosinoquinase e novos estudos vêm sendo feitos para criar novas gerações ainda mais eficazes para pacientes que já têm resistência aos MI de primeira geração.

462. AVALIAÇÃO DO VALOR PROGNÓSTICO ATRIBUÍDO AO TIPO DE TRANSCRITO BCR-ABL PRESENTE NOS PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Cruz MM^a, Bonecker S^b, Solza C^c, Capelletti PA^b, Dobbin JA^d, Zalcberg I^b

^a Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula

Óssea, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

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

^d Serviço de Hematologia, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A maioria dos pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) expressa o gene de fusão BCR-ABL, que codifica uma proteína de 210kD responsável pela transformação leucêmica. Para a formação do gene de fusão BCR-ABL, a quebra no gene BCR pode ocorrer em diferentes regiões. A quebra mais frequente na LMC ocorre entre os éxons 13 e 14 (também chamados de b2 e b3, respectivamente). Em contraste, a quebra em ABL ocorre quase que invariavelmente no éxon 2 do ABL e dá origem, assim, aos transcritos e13a2 ou e14a2 (b2a2 e b3a2, respectivamente). O valor prognóstico dos diferentes transcritos, e13a2 ou e14a2, ainda é discutível. **Objetivo:** Avaliar o possível valor prognóstico e as diferenças no curso da doença atribuídos aos tipos de transcritos BCR-ABL em pacientes com LMC em fase crônica (FC-LMC) tratados com imatinibe. **Material e métodos:** Estudamos 209 pacientes provenientes dos serviços de hematologia do INCA e HUPE, com LMC, que usaram imatinibe como primeira linha de tratamento. A identificação dos transcritos foi feita por PCR multiplex. Pacientes com acompanhamento menor do que 24 meses e com isoforma desconhecida não foram analisados. A análise estatística foi feita por meio do programa SPSS 18.0 (SPSS, Chicago, IL, USA, 2004) e valores de probabilidade ($p < 0,05$) foram considerados como estatisticamente significativos. **Resultados:** A frequência da distribuição das isoformas encontradas foi estudada ao diagnóstico. A isoforma e14a2 foi a mais frequente (41%), seguida da isoforma e13a2 presente em 38% pacientes e 15% dos pacientes apresentaram ambas as isoformas. Em 5% dos casos esse dado estava indisponível e 1% apresentou isoformas variantes. Não observamos diferença estatística entre as duas isoformas para os parâmetros: sexo, risco de Sokal, leucometria, número de plaquetas. O possível valor prognóstico atribuído pelas isoformas foi avaliado tendo como parâmetro o marco de resposta molecular aos três meses (BCR-ABL $\leq 10\%$), resposta molecular maior (BCR-ABL $\leq 0,1\%$) aos 12 meses e resposta citogenética completa (RCGc) aos 12 meses (Ph+ = 0%) e também não foi observada diferença significativa entre os grupos ($p = 0,87$, $p = 0,085$ e $p = 0,12$, respectivamente). A progressão da doença para uma fase avançada e a sobrevida global foram avaliadas e nenhuma diferença significativa foi observada ($p = 0,111$ e $p = 0,09$, respectivamente). **Discussão:** Há vários estudos com resultados controversos com relação ao prognóstico dessas duas isoformas. Alguns estudos demonstram que os pacientes que expressam a isoforma e14a2 (b3a2) alcançam com maior frequência e em menor tempo a RCGc quando comparados com os pacientes portadores da isoforma e13a2 (b2a2). Uma diferença significativa na leucometria e contagem de plaquetas também é demonstrada entre os dois grupos, nos quais os valores desses parâmetros são maiores em pacientes e14a2. Em contraste, outros estudos não encontram diferenças significativas com relação à resposta citogenética, molecular ou nos parâmetros hematológicos. Apesar das diferenças observadas entre as duas isoformas em alguns estudos, nenhum deles explicou a razão para tal observação. **Conclusão:** Nosso estudo mostrou a maior frequência de respondedores relacionada à presença do transcrito b3a2 em relação ao b2a2, porém não foi encontrado valor prognóstico diferenciado entre as duas isoformas.

463. ESTUDO DO TRATAMENTO DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA QUE FAZEM USO DE INIBIDOR DE TIROSINA QUINASE REGISTRADOS NO NÚCLEO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE SANTOS

Martino CC, Junior LCGP, Giuliani RRS, Souza TA, Ferreira ECPM

Centro Universitário Lusíada (UNILUS), Santos, SP, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa decorrente da translocação entre os cromossomos 9 e 22 e resulta no rearranjo do gene BCR-ABL denominado cromossomo Filadélfia (Ph), responsável pela codificação de uma proteína com atividade de tirosina quinase que desencadeia uma proliferação excessiva da linhagem mieloide. Sua evolução clínica apresenta três fases distintas: crônica, acelerada e blástica, com manifestações características. O diagnóstico é obtido por meio da presença de hiperplasia de precursoros granulocíticos demonstrados por hemograma, mielograma e biópsia de medula óssea e é confirmado pela presença do cromossomo Ph por de técnicas moleculares como PCR e Fish. O tratamento padrão da LMC em fase crônica é feito por meio do inibidor de tirosina quinase (ITK), o imatinibe, por causa da eficaz resposta hematológica e citogenética e por atingir respostas moleculares superiores quando comparada a outras terapias. Porém, quando o paciente se torna resistente, intolerante ou apresenta alterações cromossômicas adicionais, ele é substituído por ITKs de segunda geração, como o dasatinibe e o nilotinibe, os quais demonstraram respostas mais rápidas e mais tolerantes aos pacientes com LMC. Foram, assim, aprovados a partir de 2010 para pacientes recém-diagnosticados na fase crônica da doença como primeira linha de tratamento. **Objetivo:** Avaliar a conduta usada em 37 pacientes com LMC que fazem uso de ITK e fazer uma caracterização laboratorial. **Material e métodos:** O estudo foi feito em 37 pacientes entre 17 a 79 anos por meio da revisão de seus prontuários no Núcleo de Hematologia e Hemoterapia de Santos. **Resultados:** Dos pacientes estudados, 78,38% apresentaram o cromossomo Ph ao diagnóstico. Em todos os pacientes o medicamento usado no início da doença foi o imatinibe, no entanto 64,86% dos pacientes mantiveram o uso desse medicamento até a presente data; já em 24,32% dos pacientes houve a substituição pelo dasatinibe; em 2,70% houve a substituição por nilotinibe; 2,70% trocaram para dasatinibe e substituíram por nilotinibe, não se adaptaram e voltaram para dasatinibe; e 5,40% estão com a medicação suspensa. Um paciente apresentou aplasia medular e está com a medicação suspensa. Os demais se encontram na fase crônica controlada. Em relação à resposta citogenética, 35,13% obtiveram resposta completa, não apresentaram o cromossomo Ph; 5,40% tiveram resposta parcial, apresentaram o cromossomo Ph em 1% a 35% das células; 5,40% apresentaram resposta mínima, Ph em 66 a 95% das células; 48,5% não apresentaram resposta citogenética, desses 2,70% apresentava cromossomo Ph duplo e 2,70% cromossomo variante e 5,40% não apresentavam exame citogenético específico. Os resultados dos exames moleculares demonstraram que 27,03% atingiram resposta molecular maior, desses 5,40% apresentaram remissão completa; 13,51% apresentaram respostas não conclusivas; 32,43% apresentam resposta menor e 27,03% não apresentaram exames específicos. **Conclusão:** Foi possível avaliar a eficácia do tratamento e as alterações hematológicas à resposta citogenética e molecular, além de verificar a evolução da doença e o prognóstico por meio do monitoramento dos pacientes que fazem uso de ITK.

464. ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA ATENDIDOS NO SERVIÇO DE ONCOLOGIA DO HOSPITAL DE URGÊNCIA DE SERGIPE

Lima MMA^a, Octacílio-Silva S^a, Macena AM^a, Oliveira LGDS^a, Cazzaniga RA^a, Santana RNS^a, Baroneza JE^b

^a Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, Brasil

^b Universidade Positivo, Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma neoplasia hematológica que requer um conhecimento das características clínicas e genéticas para a predição do prognóstico e do protocolo de tratamento. Dentro desse contexto, a epidemiologia dos pacientes com LMC atendidos no Serviço de Oncologia do Hospital de Urgência de Sergipe é importante para se obter o perfil específico dos pacientes desse estado. **Objetivo:** Montar um banco de dados socioeconômicos e de evolução clínica dos pacientes. **Material e métodos:** Foram feitas entrevistas com questões

socioeconômicas com portadores de LMC, de janeiro de 2012 a dezembro de 2013, e coletas de dados clínicos em prontuários. Os dados foram analisados por estatística descritiva. O projeto está registrado no comitê de ética da UFS sob número 02342812.1.0000.0058. **Resultados:** Foram analisados 60 pacientes, sendo a relação masculino:feminino 1,14:1. A média de idade ao diagnóstico é de 40,2 anos, DP 14,9 anos, uma idade média inferior à relatada na literatura, de 45 a 50 anos. Indicadores socioeconômicos: moradia - 65% do interior do estado; escolaridade - 78,3%, desde analfabetos até ensino fundamental; renda familiar - 85% menor do que dois salários mínimos; 38,3% usaram transporte público para chegar ao Serviço; a maioria (45%) leva mais de um mês para obter o diagnóstico; 51,7% são encaminhados ao HUSE a partir de clínicas privadas, desses 77,4% apresentam renda menor do que dois salários mínimos, porém foram considerados nessa categoria os exames de rotina a pedido dos empregadores; entre os pacientes encaminhados a partir de serviços públicos, 92% têm renda menor do que dois salários mínimos. Esses dados demonstram baixo perfil socioeconômico, com grande dependência dos serviços públicos; 73,3% são assintomáticos ao diagnóstico, mas 68,3% apresentam efeitos colaterais aos TTM, não correlacionados a um medicamento específico; 91,7% estão vivos e em TTM e 8,3% foram a óbito durante o período da pesquisa, que ocorreu por não adesão ao TTM ou atraso na entrega do medicamento; 51,6% dos pacientes estão em tratamento (TTM) há menos de cinco anos, desses 65,5% usam mesilato de imatinibe; esse número cai para 35,5%, empatado com dasatinibe, quando são considerados pacientes em TTM há mais de cinco anos. Entre esses últimos, três vezes mais pacientes usam nilotinibe do que aqueles com menos de cinco anos de TTM. Citogeneticamente, a maioria dos pacientes apresenta alterações relacionadas a bom prognóstico: 83,3% cromossomo Filadélfia (Ph) e Ph variante; 16,7% não consta. **Conclusão:** A LMC em Sergipe acomete predominantemente adultos, sem diferenças entre sexos, moradores do interior do estado e com baixo perfil socioeconômico, com grande dependência dos órgãos públicos de saúde. Existe um bom prognóstico da doença, com tratamentos prolongados e assintomáticos.

465. ESTUDO CITOGENÉTICO DAS NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS E LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS: O QUE APRENDEMOS COM O PROJETO LMA BRASIL?

Oliveira FCAC^a, Kishimoto RK^a, Borri D^a, Santos FP^a, Campregher PV^a, Santucci R^b, Salvino MA^c, Souto EX^d, Fadel AV^e, Higachi M^f, Velloso EDRP^a

^a Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto de Oncologia e Hematologia (HEMOMED), São Paulo, SP, Brasil

^c Hospital São Rafael, Salvador, BA, Brasil

^d Hospital Brigadeiro, São Paulo, SP, Brasil

^e Hospital das Clínicas de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

^f Fundação Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

Introdução: A análise citogenética é fundamental para classificação, avaliação inicial e sequencial das neoplasias mieloides (NM). Pela classificação da OMS 2008, as NM compreendem: mieloproliferativas (NMP), mielodisplásicas/mieloproliferativas (NMD/NMP), mieloides e linfoides com eosinofilia associadas a rearranjos PDGFR α , PDGFR β , FGFR1(NML), síndromes mielodisplásicas (SMD) e leucemias mieloides agudas (LMA). O Projeto LMA Brasil, uma parceria do Hospital Albert Einstein com o Ministério da Saúde iniciado em 2012, visa a avaliar incidência e relevância clínica de mutações moleculares em pacientes com NM. **Objetivo:** Traçar o perfil citogenético e avaliar a relação de variáveis pré-analíticas com o insucesso do cariótipo e o papel do Fish MLL e Multipanel SMD/LMA. **Material e métodos:** Foram analisadas 334 amostras de sangue periférico (SP: 59) e medula óssea (MO: 275) procedentes de 287 pacientes, processadas no Laboratório de Citogenética do Hospital Albert Einstein, de maio de 2013 a abril de 2014. Para processamento do cariótipo e Fish foram usadas recomendações do European Leukemia Net Workpackage Cytogenetics. As variáveis pré-analíticas estudadas foram: tempo entre coleta e processamento do material, local de origem, tipo de material (SP ou MO), material com ou sem restrição (envelhecido, volume insuficiente), número de células nucleadas na amostra (> ou < 7X10³/ μ L) e diagnóstico. Foi usado teste qui-quadrado ($p = 0,05$). **Resultados:** Mediana da idade 61 (16-86) anos, 52,9% sexo feminino. Foram encaminhadas 334 amostras, 126 (37,7%) NMP, 108 (32,3%) LMA, 48 (14,4%) SMD, 15 (4,5%) SMD/NMP, uma (0,3%) NML, 31 (9,3%) sem diagnóstico de certeza e cinco

(1,5%) de outros diagnósticos (neoplasias linfoides); 249 (74,6%) amostras foram coletadas no Hospital Albert Einstein, 85 (25,4%) provenientes de outros 11 centros. A mediana de tempo da coleta ao processamento foi de sete horas. Houve ausência de metáfases em 68 (20,3%) amostras. As variáveis pré-analíticas associadas à ausência de metáfase foram: sangue periférico ($p < 0,00$), número de células nucleadas na amostra ($p < 0,00$), amostras com restrição ($p < 0,00$). Observamos anormalidades clonais em 35% (93/266) das amostras avaliáveis; 43,7% (35/80) dos cariótipos de LMA pré-tratamento apresentaram-se anormais [inv16/ t(16;16), del11 e +8], 23,4% (23/98) nas NMP [del5q, del20q, del13q], 48,6% (18/37) nas SMD [+8, -Y, del5q], 7,1% (1/14) nas SMD/NMP. Foi diagnosticado um caso de NML PDGFR α . Fish foi feito em 76 amostras, com anormalidade em 24,5%. Duas das 30 amostras de Fish MLL (oito com cariótipo anormal, 19 normal e três ausência de metáfases) foram anormais. Fish Multipanel foi feito em 37 amostras (duas com cariótipo anormal, oito normal e 27 ausência de metáfases) e foi anormal em oito. Das 44 amostras com estudo concomitante por cariótipo e Fish, apenas um caso mostrou discordância (ruptura MLL). **Conclusão:** A taxa de ausência de metáfases foi alta (quatro a cinco vezes maior do que a média do laboratório) e está diretamente relacionada à baixa celularidade e ao tipo de amostra (SP). A prevalência das anormalidades citogenéticas neste estudo é semelhante à da literatura. O Fish Multipanel foi importante na detecção de anormalidades clonais quando da ausência de metáfases (18,5%). O Fish MLL parece uma estratégia cara e pouco efetiva na detecção de anormalidades em LMA com cariótipo normal.

466. APRESENTAÇÃO SIMULTÂNEA DE LMC E PORFIRIA CUTÂNEA TARDA – RELATO DE CASO CLÍNICO

Oliveira ACP, Oliveira JPR, Gonzaga YBM

Instituto Nacional do Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A porfiria cutânea tarda é uma patologia de ocorrência rara, fruto do distúrbio do metabolismo das porfirinas. Sua associação com neoplasias hematológicas é relatada na literatura. **Objetivo:** Relatar um caso clínico de ocorrência simultânea de porfiria cutânea tarda e leucemia mieloide crônica que se encontra em remissão hematológica e em uso de imatinibe. **Relato de caso:** Paciente, 45 anos, sexo masculino, com relato de lesões vesículo-bolhosas em MMSS em áreas de exposição solar de início havia aproximadamente um ano associada a astenia, cefaleia e dor abdominal. Fez hemograma com leucocitose com desvio escalonado à esquerda. Pesquisa de uroporfirinas urinárias que confirmou PCT (7523). Pesquisa de mutação BCR-ABL e transcrito b3a2 confirmaram associação com LMC. **Conclusão:** A porfiria cutânea tarda ocorre por causa de uma diminuição da atividade de uma enzima, a uroporfirinogênio-decarboxilase. A ocorrência simultânea com neoplasias hematológicas é rara e relatada na literatura. Além do defeito enzimático, a apresentação clínica ocorre da interação com fatores desencadeantes tipo: sobrecarga de ferro, alcoolismo, hepatite C, HIV, medicamentos etc. Clinicamente manifesta-se com lesões de pele vesiculares, bolhas e crostas em áreas de exposição solar, além de hipertricose, fragilidade cutânea e urina avermelhada. O diagnóstico é clínico-laboratorial, com as dosagens de uroporfirinas na urina, no sangue e nas fezes. O tratamento é a retirada dos fatores desencadeantes, uso de protetores solares, flebotomias de repetição e/ou uso de cimetidina ou cloroquina oral.

467. IDENTIFICAÇÃO DE ALTERAÇÕES EM CALR E SUA CORRELAÇÃO COM O FENÓTIPO DAS NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

Correia WD^a, Monte-Mor BCR^a, Silva JPA^a, Coelho AC^a, Solza C^b, Daumas AH^c, Bonamino MH^a, Zalberg I^a

^a Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

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

^c Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Introdução: As neoplasias mieloproliferativas crônicas (NMPs) são doenças provenientes da proliferação clonal de um progenitor hematopoietico pluripotente mutado, sensível a citocinas, que leva à expansão de uma ou mais linhagens mieloides, que por sua vez se dividem em leucemia mieloide crônica (LMC), trombocitemia essencial (TE), policitemia vera (PV) e mielofibrose primária (MF). A principal alteração mo-

lecular descrita nas NMPs BCR-ABL negativas é a mutação JAK2V617F, presente em 97% de pacientes com PV e 50% dos pacientes com TE e MF. Recentes metodologias de análise global do genoma permitiram a identificação de alterações no gene da calreticulina (CALR) em pacientes com TE e MF negativos para JAK2V617F, nos quais 85% apresentam alterações do tipo inserção e deleção. **Objetivo:** Padronizar a metodologia qualitativa e identificar, entre pacientes com TE e MF JAK2V617F negativos aqueles que têm alterações em CALR e correlacionar os dados com parâmetros clínicos. **Material e métodos:** A partir de uma coorte de 125 pacientes com TE e MF, identificamos 54 que foram previamente caracterizados como JAK2V617F negativos e foram submetidos à análise de mutações do gene CALR, por meio de reações de PCR, seguida de análise de fragmentos e sequenciamento Sanger. **Resultados:** Apresentaram INDEs em CALR 56% (30/54) dos pacientes (41 TE e 13 MF). Desses, 54% (21/39) com TE apresentaram mutações em CALR, 12% do tipo I (p.L367fs*46) e 41% do tipo II (p.Lys385fs*47). Em MF observamos 38% e 23% do tipo I e II, respectivamente. Também observamos três pacientes TE com mutação no éxon 10 de MPL (p.Trp515Leu). Pacientes com TE e INDEs em CALR são mais jovens ($p = 0,045$), têm níveis de hemoglobina ($p = 0,002$) e hematócrito ($p = 0,002$) mais baixos, quando comparados com aqueles JAK2V617F negativos. Pacientes com MF e INDEs em CALR têm níveis de plaqueta mais altos ($p = 0,0167$) comparados com os triplo negativos e menor número de neutrófilos ($p = 0,0124$) quando comparados aos JAK2V617F positivos. **Conclusão:** A partir do emprego da nova metodologia, foi possível a caracterização molecular, por meio de reações que identificaram mutações em JAK2, CALR e MPL, em 92% das PV, 74% das TE e 72% das MF e associar as mutações em CALR com características clínicas, que foram semelhantes às outras coortes previamente descritas.

468. A PÍLULA MÁGICA E O (PRÉ) CONCEITO: A REALIDADE E O IMPACTO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA NA VIDA DO PACIENTE

Lombardo MS, Cyrino APP, Hokama NK, Hokama POM

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Introdução: O câncer é uma doença crônica temida e estigmatizada em nossa sociedade que produz um impacto no corpo físico e psíquico de seu portador. Afeta a identidade do indivíduo, considerado uma pessoa “com ou apesar da doença”. Isso reflete em conviver com “dias bons e dias ruins”. Todavia, cada vez mais o câncer vem sendo reconhecido como uma doença controlável e com sobrevida longa, que permite a seu portador a manutenção de seus projetos de vida e suas atividades rotineiras em diferentes dimensões da vida cotidiana. O advento das drogas alvo-específicas para o tratamento da leucemia mieloide crônica (LMC) marcou “dias de glória” na história do “combate” ao câncer. **Objetivo:** Compreender a experiência de adoecimento e o impacto da LMC na vida diária do portador, bem como sua percepção sobre o processo de adoecimento, seu tratamento e a repercussão da doença em sua vida de relação. **Material e métodos:** Foram feitas sete entrevistas semiestruturadas com duas mulheres e cinco homens portadores de LMC, acompanhados no ambulatório de onco-hematologia do HC da FMB-UNESP. A análise temática de conteúdo dos dados produzidos foi orientada por uma adaptação da proposta de Bradin. **Resultados:** Verificamos que a experiência de adoecimento é inicialmente percebida por meio de manifestações corporais variadas e, no geral, pouco intensas, mas suficientes para que alguns dos sujeitos buscassem esclarecê-las. O diagnóstico da LMC provocou um impacto na vida dos sujeitos, marcou um antes e um depois, provocado por diferentes mudanças no cotidiano: o tratamento de longa duração, a rotina de visitas ao hospital para consultas e exames, perturbações e transformações nas relações de trabalho, pessoais e familiares. A medicação oral só ganhou destaque naqueles que experimentaram tratamento anterior com medicamentos produtores de efeitos colaterais severos. Para os que iniciaram o tratamento pela medicação oral, seus efeitos colaterais, ainda que mais leves do que os da quimioterapia, foram produtores de incômodos diversos. Houve preferência pelo tratamento oral quando comparado ao transplante, pois mesmo associado à cura apresentava riscos elevados. **Conclusão:** A convivência com mudanças fez com que os nossos interlocutores readequassem suas vidas. O tempo permitiu que criassem estratégias para enfrentar a doença, com ajuda de parentes. Reconheceram que a LMC é menos agressiva e readaptaram suas atividades. Os planos e as perspectivas foram ajustados, para terem uma vida o mais próximo do normal.

469. CYTOGENETIC AND MOLECULAR DIAGNOSIS OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA PATIENTS FROM THE PROJECT LMA-BRASIL ACCORDING TO THE LEUKEMIANET CLASSIFICATION

Campregher PV^a, Hamerschlak N^a, Santucci R^b, Salvino MA^c, Fadel AV^d, Souto EX^e, Farias DLC^f, Higashi M^g, Velloso EDRP^a, Santos FPS^a

^a Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brazil

^b Instituto Hemoméd de Oncologia e Hematologia (HEMOMED), São Paulo, SP, Brazil

^c Hospital São Rafael, Salvador, BA, Brazil

^d Hospital das Clínicas de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Botucatu, SP, Brazil

^e Hospital Brigadeiro, São Paulo, SP, Brazil

^f Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brazil

^g Fundação Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

Introduction: The appropriate diagnosis and classification of patients with Acute Myeloid Leukemia (AML) requires clinical, morphologic, immunophenotypic, cytogenetic, and molecular analysis. A multicentric clinic-laboratorial study entitled Projeto LMA Brasil was developed during the last 18 months, and one of its goals was to offer a complete cytogenetic and molecular diagnosis for patients with a diagnosis of *de novo* AML. The goal of this work is to describe the molecular and cytogenetic classification of the first 96 patients enrolled in this study.

Methods: Ninety six consecutive patients from ten centers were included. After a diagnosis of AML, the authors performed a cytogenetic study. If the result was compatible with high risk disease (complex karyotype, t(6;9)(p23;q34), inv(3)(q21;q26.2), t(v;11)(v;q23), -5, del(5q), -7, abnormal 17p), or intermediate II, with t(9;11)(p22;q23), the analysis was stopped; otherwise the sample was tested for FLT3 or NPM1 mutation. Patients with wild type FLT3 and NPM1 were screened for CEBPA mutations. Patients with core binding factor leukemias were tested for KIT exon 8 and 17 mutations, and also for FLT3 TKD mutations. **Results:** The most common karyotypes were diploid (NK) (n = 54), trisomy 8 (n = 8), complex (n = 7), inv(16) (n = 5), t(8;21) (n = 5), del(11) (n = 3), t(9;11) (n = 2), and others (n = 12). The most common molecular alterations were FLT3 (n = 15), NPM1 (n = 15), CEBPA (n = 2), and KIT (n = 2). According to the LeukemiaNet risk classification, 20 patients had favorable risk disease (10 CBF AML, eight NK with NPM1+ FLT3-, and two patients with NK and CEBPA mutation), 42 patients had intermediate I disease (seven NPM1+ FLT3+, 3 FLT3+ NPM1-, with NK, and 32 patients with NK, FLT3- NPM1- and CEBPA-), 21 patients had intermediate II disease (three patients with t(9;11) and 20 had other cytogenetic abnormalities), and 11 patients had adverse risk (seven complex, one 5q-, two monosomy 7, and one inv(3)). Among patients with CBF leukemias, three patient with inv(16) had gene mutations (one FLT3 and two KIT) and two patients with t(8;21) also had mutations (one FLT3 and one KIT). Two patients with trisomy 8 had FLT3 mutations and the two patients with NK and CEBPA mutations had a single allele mutation. Noteworthy is the fact that in comparison with a published work with North American AML patients (Mrózek K, JCO 2012), this Brazilian population had less adverse risk patients (31% vs. 12%) and more patients with intermediate I and II disease (49% vs. 63%). **Conclusion:** i) This study described a cohort of 96 patients with *de novo* AML according to the classification LeukemiaNet. ii) This Brazilian cohort has fewer patients with adverse risk disease and more patients with intermediate disease when compared to a previously published cohort of North American AML patients.

470. CALR MUTATIONS IN PATIENTS WITH JAK2 V617F NEGATIVE PRIMARY MYELOFIBROSIS AND ESSENTIAL THROMBOCYTHEMIA

Campregher PV^a, Lisboa B^a, Santucci R^b, Salvino MA^c, Soares RDA^d, Souto EX^e, Farias DLC^f, Fadel AV^g, Hamerschlak N^a, Santos FPS^a

^a Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brazil

^b Instituto Hemoméd de Oncologia e Hematologia (HEMOMED), São Paulo, SP, Brazil

^c Hospital das Clínicas, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brazil

^d Núcleo de Hematologia e Hemoterapia (NHH), Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brazil

^e Hospital Brigadeiro, São Paulo, SP, Brazil

^f Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brazil

^g Hospital das Clínicas de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Botucatu, SP, Brazil

Introduction: Essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF) are myeloproliferative neoplasms (MPN) with similar driver mutations. The three hallmark molecular alterations in these diseases are JAK2, MPL, and CALR mutations. JAK2, CALR, and MPL mutations are present in around 60%, 25%, and 5% of these patients, respectively, and are as a rule, they are mutually exclusive. Recent data suggest that patients with CALR mutations present a better prognosis than patients with either JAK2 or MPL mutations, making it necessary to evaluate these patients for CALR mutations at diagnosis. The goal of this work was to develop a molecular test for CALR mutation analysis and to evaluate the patients with myeloproliferative disease from the project LMA Brasil. **Methods:** Two tests were developed to detect exon 9 CALR mutation. Since most mutations described in the literature have been insertions and deletions, a fragment analysis was performed, in which the authors use one primer labeled with FAM and run the PCR product in the capillary electrophoresis platform ABI 3500xl and one method based on standard Sanger sequencing in the same platform. Forty (PMF = 22, TE = 18) patients with a diagnosis of JAK2 negative PMF or ET were studied. **Results:** Twenty-one patients had CALR mutations (52%). In addition to fragment analysis, this study sequenced seven patients to diagnose the exact mutation found. The most common mutation was a 52 base pair (bp) deletion, present in 11 patients. Sequencing of two of these samples revealed the mutation c.1092_1143del, L367fs*46. Eleven samples presented with a 5 bp insertion; that sequencing was revealed to be c.1154_1155insTTGTC; p.K385fs*47. One patient had a22 bp deletion (c.1125_1146del22) and another had a 5 bp deletion (c.1122_1126del, K374NfsX55). In total, 14 out of 22 PMF patients (63%) and seven out of 18 ET patients (38%) presented CALR mutations. **Conclusion:** In this cohort, CALR was mutated in 52% of patients with JAK2 V617F negative ET and PMF, present in 63% of PMF and 38% of ET patients, confirming it as the second most common genetic alteration in this group of patients.

471. A RESISTÊNCIA ÀS DROGAS INIBIDORAS DE TIROSINA QUINASE PODE ESTAR RELACIONADA COM O AUMENTO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO MODULADO PELOS NÍVEIS DE EXPRESSÃO DE PEROXIRRÉDOXINAS EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Woldmar L^a, Mascarenhas C^b, Romanello K^a, Costa MB^a, Almeida MH^c, Souza CA^c, Malavazi I^a, Cunha AF^a

^a Universidade Federal de São Carlos (UFSC), São Carlos, SP, Brasil

^b Universidade Católica de Brasília (UCB), Taguatinga, DF, Brasil

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

Introdução: As peroxirrredoxinas (Prdx) são uma família de peroxidases antioxidantes que protegem as células do estresse oxidativo, modulam cascatas de sinalização celular que têm como mensageiro secundário o peróxido de hidrogênio e regulam a proliferação celular. Dessa forma, as Prdx estão relacionadas à tumorigênese por atuar como antioxidantes, regular a proliferação e a apoptose celular, modular cascatas de sinalização e interagir com produtos de oncogenes e moléculas relacionadas com a tumorigênese. A relação entre as Prdx e a leucemia mieloide crônica (LMC) foi até o presente momento pouco estudada; no entanto, existem evidências de que o aumento do estresse oxidativo por espécies reativas de oxigênio (Eros) pode contribuir para a instabilidade genômica e levar ao acúmulo de mutações e aberrações cromossômicas que podem resultar na resistência aos inibidores de tirosina quinase (TKIs) usados para tratar a doença. **Objetivo:** Correlacionar a expressão gênica e proteica de peroxirrredoxinas com o estresse oxidativo, o desenvolvimento da LMC e a promoção da resistência aos TKIs, permitir uma melhor compreensão dos mecanismos da doença e ajudar no desenvolvimento de novos alvos para o tratamento em pacientes resistentes aos TKIs. **Material e métodos:** A expressão gênica de peroxirrredoxinas foi avaliada em 17 pacientes com LMC na fase crônica e tratados com TKIs e em oito voluntários saudáveis. Os pacientes foram classificados de acordo com os critérios do European Leukemia Net como respondivos (seis), resistentes (seis) ou com resposta subótima (cinco) aos TKIs. Os

pacientes com LMC foram tratados com imatinibe 300-800 mg/dia, dasatinibe 70-140 mg/dia ou nilotinibe 800 mg/dia. Dasatinibe e nilotinibe foram usados em pacientes com resistência ao imatinibe. As amostras foram coletadas no Hemocentro da Universidade Estadual de Campinas. A expressão gênica foi avaliada por PCR quantitativa em tempo real com a β -Actina como controle endógeno e os resultados foram analisados com 2^{- $\Delta\Delta$ CT}; as análises estatísticas foram feitas com o teste t de Mann-Whitney. **Resultados:** Existe uma diferença na expressão gênica de Prdx em pacientes com LMC e indivíduos controle. A expressão de PRDX1 foi significativamente reduzida em todos os grupos com LMC quando comparada com a dos voluntários. A expressão de PRDX2 foi reduzida em pacientes responsivos, mas não exibiu diferenças significativas nos outros pacientes. A PRDX6 teve expressão reduzida em pacientes responsivos e com resposta subótima. Para avaliar a expressão proteica das Prdx e o estado oxidativo delas serão feitas análises de Western Blot. **Conclusão:** Os resultados indicam que a expressão gênica de Prdx é menor em pacientes com LMC quando comparada com a dos voluntários saudáveis. A diminuição na expressão de peroxirredoxinas observada especialmente no grupo responsivo pode contribuir para o desenvolvimento da resistência aos TKIs, uma vez que a destoxificação das Eros fica comprometida, os efeitos do estresse oxidativo são ainda mais drásticos e levam a mutações que podem resultar no desenvolvimento de uma resistência aos TKIs. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

472. POLIGLOBULIA EM PACIENTES REUMATOLÓGICOS TRATADOS COM AGENTES ANTI-TNF

Inowe EK^a, Fonseca GHH^a, Suganuma LM^a, Lotério HA^a, Silveira PAA^a, Gualandro SFM^b

^a Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Agentes modificadores de resposta biológica, como o anti-corpo monoclonal específico contra o fator de necrose tumoral (anti-TNF), têm mudado drasticamente o curso de doenças sistêmicas autoimunes. Tais medicações são, em geral, seguras, mas têm efeitos adversos conhecidos, como aumento do risco de tuberculose disseminada e elevação da incidência de neoplasias. **Objetivo:** Relatar dois casos de pacientes tratados com diferentes agentes anti-TNF que desenvolveram quadro de poliglobulia. **Material e métodos:** Revisão de prontuário médico. **Relato de caso:** Dois pacientes em uso de anti-TNF, com boa resposta clínica da doença reumatológica, apresentaram elevação subsequente dos níveis de hemoglobina. Foi efetuada investigação diagnóstica com pesquisa da mutação JAK2V617F, que resultou negativa; dosagem de eritropoetina, com nível sérico normal; foram afastadas demais causas para poliglobulia secundária. Após a introdução de adalimumabe, um dos pacientes, com espondilite anquilosante, apresentou níveis ascendentes de hemoglobina de até 19,4 e hematócrito de 53,9%. Os resultados dos exames anteriores estavam dentro dos parâmetros de normalidade. Foram feitas flebotomias periódicas para manter o valor de Hb normal. Em um segundo caso, em uma paciente com artrite reativa, em uso de infliximabe, foram observados níveis oscilantes de hemoglobina, conforme a introdução e a suspensão da medicação, durante a assistência médica da especialidade. Seus valores de hemoglobina e de hematócrito atingiram máximos de 19,7% e 61,2%, respectivamente, após a introdução do anti-TNF. Durante seu acompanhamento com a equipe da reumatologia, optou-se por interromper temporariamente o uso do infliximabe e foi observada queda posterior dos valores de Hb para 11,2. **Discussão:** Existem poucos casos relatados na literatura de policitemia secundária ao uso do anti-TNF. O mecanismo para esse efeito adverso ainda não está esclarecido. Pela natureza inflamatória das doenças tratadas com anti-TNF, poderia ser inferido que o simples controle da anemia de doença crônica propiciaria a elevação da Hb, porém não seria esperada a elevação para valores acima da normalidade. Possivelmente, o TNF tem papel não esclarecido na eritropoiese. **Conclusão:** Pacientes tratados com agentes anti-TNF podem apresentar poliglobulia. É necessária investigação cuidadosa e exclusão de causas mais comuns. Avaliação de casos adicionais poderá propiciar melhor compreensão dos mecanismos que levam a essa complicação.

473. EVALUATION OF PATIENTS WHO DEVELOPED PLEURAL EFFUSION WITH DASATINIB ONCE A DAY

Datoguia TS, Conchon M, Rodrigues JS

Casa de Saúde Santa Marcelina, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Chronic myeloid leukemia (CML) is a clonal disease of hematopoietic cells, which is well known for a target therapy, the tyrosine kinase inhibitors (TKI). Among possible treatments, there are imatinib, nilotinib and dasatinib. Dasatinib is the one that causes more serositis, specifically pleural effusion. It is grounded that the reason is multifactorial, including immune mediated (presence of lymphocytosis), inhibition of PDGFRB (involved in angiogenesis regulation) and attendance of comorbidities (heart disease, hypertension and hypercholesterolemia). Another important cause is administration dose. Many patients develop pleural effusion with dasatinib 140 mg divided in two doses of 70 mg. **Objective:** The aim of the study is to evaluate the period of emergence of pleural effusion in a patient diagnosed with CML in regular use of dasatinib. **Methods:** During the follow up of patients diagnosed with CML, records of patients who had taken or were still taking dasatinib were separated and analyzed. **Results and discussion:** Twenty patients treated with dasatinib were evaluated. Six (30%) developed clinical evidence of pleural effusion, grade 2-3. Only one patient had dasatinib as first-line treatment. Out of the six patients, five started therapy with 100 mg daily, and one with 140 mg per day. The mean time between beginning therapy with dasatinib and the onset of the first episode of pleural effusion in this study was 21 months. Half of the patients who developed pleural effusion (50% of cases) had comorbidities at diagnosis. Among patients who developed pleural effusion, only one was still using dasatinib. **Conclusions:** Patients develop serositis in the beginning of the treatment. Despite not knowing the actual mechanism by which pleural effusion develops or the necessary trigger for this disorder, it is believed that screening with decent clinical tests to measure cardiac and pulmonary function may help choosing the TKI to be added.

474. LEUCEMIA EOSINOFÍLICA CRÔNICA/LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA – RELATO DE CASO

Silva JO, Silva SS, Bollmann PW, Bonito D, Borducchi DMM

Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

Introdução: A leucemia eosinofílica crônica (LEC) é uma neoplasia mieloproliferativa cuja proliferação clonal autônoma de precursores eosinofílicos resulta em persistente aumento de eosinófilos em sangue periférico, medula óssea e tecidos periféricos. Danos a órgãos ocorrem em consequência de infiltração leucêmica ou por liberação de citocinas e enzimas pelos eosinófilos. A complicação clínica mais séria é a endomiocardiofibrose, cursando com cardiomegalia restritiva, e possível formação de trombos intracardíacos, que embolizam para sistema nervoso central. A sobrevida dos pacientes é variável, relacionada à progressão para outras anormalidades da linhagem mieloide. A leucemia linfoblástica aguda B (LLA-B) é uma neoplasia de células precursoras acometendo linhagem linfóide B. O objetivo deste trabalho é relatar um caso de paciente com LEC que progrediu para LLA-B. **Relato do caso:** W.L.O., masculino, 18 anos, sem antecedentes patológicos, queixa de fadiga e perda ponderal de 5 kg há dois meses. Evolução súbita para hemiparesia braquial D, procurando pronto atendimento. Clinicamente, apresentava estado geral regular, orientado, eupneico, afebril e com força muscular grau III MSD. Exame abdominal com hepatomegalia discreta. Laboratorialmente, apresentava: Hemograma: Hb = 10,8 g/dL, Ht = 37,1%, LT = 155.000/mm³, com 40.300/mm³ (26%) neutrófilos, 110.000/mm³ (70%) eosinófilos, 3.100/mm³ linfócitos (2%), 1.550/mm³ monócitos e plaquetas = 144.000/mm³. Miелоgrama: medula óssea hiperplásica com a série granulocítica, intensa eosinofilia (83%); hipoplasia da série vermelha e megacariocítica; 15% de linfócitos maduros, sem células imaturas. Imunofenotipagem de medula óssea: 84% de eosinófilos e 3% de células jovens (CD34+). DHL = 1.584U/L, troponina = 0,25 ug/L, BNP = 606 pg/mL, B2-microglobulina = 3,1 mg/dL, sorologias virais para hepatite B/C e HIV negativas, tryptase = 6 ng/mL (2-10). Pesquisa da mutação V617F no gene JAK2 por PCR: negativa. Pesquisa de rearranjo gênico BCR/ABL por PCR: negativa. Enquanto aguardávamos resultados de estudos moleculares e citogenéticos, foi feita hipótese diagnóstica de síndrome hiper eosinofílica. Paciente tratado com hidroxiureia, que causou acentuada queda de leucócitos e eosinófilos. Após 15 dias, hemograma de controle revelou

persistente eosinofilia, além de linfocitose absoluta. Realizou-se novo mielograma, que evidenciava eosinofilia e a presença de 22% de células linfóides com características imaturas. Estudo imunofenotípico revelou 22,3% de linfócitos imaturos da linhagem B, com positividade para antígenos CD10, CD19, CD20 e CD22. Biópsia de medula óssea confirmou infiltração medular por neoplasia linfoblástica, com fenótipo de células B imaturas, consistente com LLA-B. Pesquisas por FISH no material da medula óssea dos rearranjos PDGFRA (4q12), PDGFRB (5q33.1) e FGFR1 (8p11.2) negativas. Cariótipo: 46,XY [20]: normal. Frente à ausência dos rearranjos PDGFRA, PDGFRB e FGFR1, cariótipo normal, com medula óssea com infiltração de mais de 20% de população linfóide B imatura, foi feito diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda associada à eosinofilia. Paciente está em tratamento com poliquimioterapia (esquema HyperCVAD) e anticoagulação com heparina de baixo peso molecular. Após o primeiro ciclo, desapareceram os blastos e a eosinofilia em medula e sangue periférico. Estudo molecular complementar, como a pesquisa do rearranjo funcional entre gene IL3 e IGH alfa, assim como sequenciamento genético poderiam auxiliar no refinamento diagnóstico desta leucemia.

475. DESFECHO E PREDITORES DE RESPOSTA AOS INIBIDORES DE TIROSINOQUINASE DE 2ª GERAÇÃO EM PACIENTES COM LMC EM FASE CRÔNICA RESISTENTES AO IMATINIBE

Vieira FC^a, Bonito D^a, Giglio AD^a, Bollmann PW^a, Casati MFM^b, Oliveira VH^b, Guiguer IC^b, Borducchi DMM^a

^a Disciplina de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

^b Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

O objetivo desse trabalho é avaliar o desfecho de pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) em fase crônica (FC), em uso de inibidores de tirosinoquinase (ITKs) de segunda geração após falha com imatinibe, tratados no serviço de Hematologia do Hospital Estadual Mário Covas, da Faculdade de Medicina do ABC, e validar o escore de Hammersmith como preditor de resposta em pacientes com LMC em FC em segunda linha de tratamento. Entre maio de 2009 e dezembro de 2013, 63 pacientes com LMC foram acompanhados no Hospital Estadual Mário Covas em uso de imatinibe. Destes, 25 foram resistentes ao imatinibe e tratados com inibidores de segunda linha. Para cada paciente, foram realizadas avaliações periódicas para definição de resposta. Esta avaliação incluiu exame clínico, hemograma, cariótipo de medula óssea e a pesquisa da proteína BCR-ABL por técnica de *Reverse Transcriptase PCR* (rtPCR). Os critérios de resposta do *Leukemia Net* foram adotados neste estudo. Aplicamos em nossos pacientes o escore prognóstico de Hammersmith, que se baseia em três fatores: melhor resposta citogenética ao imatinibe, escore de Sokal e neutropenia durante o uso de imatinibe. Com uma mediana de *follow-up* de 20,2 meses, nove pacientes apresentaram resposta citogenética completa, sendo oito com RMM. Onze pacientes apresentaram progressão. O tempo mediano de SLP foi 9,5 meses (IC 95% 0-23,9). Quando o escore de Hammersmith foi aplicado em nossa população de 20 pacientes, dois deles (10%) eram de baixo risco, 10 (50%) eram de risco intermediário, e oito (40%) de alto risco. Em nosso estudo, provavelmente por a amostra ser pequena, o escore de Hammersmith não conseguiu prever a resposta à terapia. Possivelmente, uma nova análise com maior número de pacientes seja necessária para validar este escore em nossa população.

476. PERFIL DOS PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA EM UMA UNIDADE DE ALTA COMPLEXIDADE NO SUL DE MINAS GERAIS

Oliveira FF, Malaquias PC, Rabelo IB

Hospital da Santa Casa de Poços de Caldas, Poços de Caldas, MG, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença clonal maligna, com proliferação da linhagem mieloide a partir de alteração citogenética característica (translocação entre os cromossomos 9 e 22). Tal translocação leva ao surgimento do gene BCR-ABL, que codifica a proteína de mesmo nome, da família das tirosina quinases, com consequente proliferação celular desordenada. A maioria dos casos é diagnosticada na fase crônica, evoluindo para as fases acelerada e crise

blástica caso o tratamento inicial não seja instituído. O tratamento da LMC é definido de acordo com a fase do diagnóstico e implica o uso de inibidores da tirosina quinase (p. ex. imatinibe, dasatinibe e nilotinibe), o que mudou a sobrevida dos pacientes com a doença. **Métodos:** Levantamento de prontuários dos pacientes com LMC em seguimento em uma Unidade de Alta Complexidade no Sul de Minas Gerais. **Resultados:** Entre os 24 pacientes (100%) com LMC em seguimento regular na Unidade de Atendimento de Alta Complexidade em Oncologia (UNACON) de Poços de Caldas-MG, oito (33,3%) são do gênero feminino, e 16 (66,6%) do masculino. Vinte e dois (91,6%) foram diagnosticados na fase crônica, e dois (8,3%) na fase acelerada, a maioria (91,6%) sem comorbidades. Todos os pacientes diagnosticados iniciaram a terapia com mesilato de imatinibe, 400mg ao dia. Em relação ao item efeitos colaterais, 13 (54,16%) apresentaram sintomas gastrointestinais (náuseas ou diarreia) ou toxicidade hematológica (neutropenia ou trombocitopenia); 10 (41,6%) pacientes necessitaram de interrupção momentânea e reajuste de dose em consequência das citopenias, sem progressão da doença. Três pacientes (12,5%) tiveram o imatinibe substituído por dasatinibe 100mg ao dia, sendo um por conta de hepatite medicamentosa, um por mialgia intensa e um em consequência de crise blástica por provável má aderência ao tratamento (LLA B comum, tratado com HyperCVAD + dasatinibe). Com exceção do paciente em crise blástica, os demais preenchem, atualmente, critérios para remissão completa ou parcial. **Discussão:** A evolução do tratamento da LMC foi estratosférica com os inibidores de tirosina quinase. Reações adversas mais relatadas são sintomas gastrointestinais, mialgia, edema, toxicidade hematológica e reações cutâneas. Estas influenciam diretamente na aderência do paciente ao tratamento e nos índices de resposta. Os efeitos adversos apresentados por nosso grupo de pacientes foram compatíveis aos relatados pela literatura e manejados com rapidez e eficiência por toda a equipe multidisciplinar. Para o planejamento da assistência de saúde multidisciplinar a estes pacientes, faz-se necessário conhecer as principais características da LMC e as especificidades dos acometidos, bem como os principais efeitos adversos da medicação empregada. Um "Diário de medicamento do paciente" foi elaborado pela equipe do UNACON a fim de realizar acompanhamento próximo e identificar os efeitos colaterais de forma precoce, com intuito de propor medidas para que o paciente tenha qualidade de vida e não interrompa o tratamento. Esta medida é eficaz, e conseguimos abranger praticamente todos os pacientes em seguimento. O paciente que evoluiu para crise blástica tinha um perfil hostil e não seguia corretamente as orientações da equipe. A ação multidisciplinar e toda orientação ao paciente facilitam o reconhecimento precoce dos efeitos adversos e a ação terapêutica adequada, evitando descontinuidades medicamentosas e consequentes danos ao tratamento.

477. AVALIAÇÃO DAS MUTAÇÕES COMPOSTAS EM PACIENTES COM LMC RESISTENTES AO TRATAMENTO COM IMATINIBE

Bonecker S^a, Cappelletti P^a, Carneiro M^b, Bonamino MH^b, Zalcberg I^a

^a Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO), Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Programa de Carcinogênese Molecular, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A presença de mutação no domínio quinase na região translocada do gene ABL é o principal mecanismo de resistência em pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) em uso de inibidores de tirosina quinase (ITK). A LMC é uma neoplasia caracterizada pela presença da translocação entre os cromossomos 9 e 22, resultando na proteína quimérica BCR-ABL, com atividade de tirosina quinase constitutiva. O tratamento desta leucemia foi revolucionado com a introdução dos ITKs; porém, estes não curam a doença, e cerca de 40% dos pacientes tornam-se resistentes e há a necessidade de troca do tratamento, seja por outro inibidor ou por transplante de medula óssea. Das mais de 100 mutações descritas, apenas sete possuem relevância clínica comprovada, e estudos recentes mostraram que a presença de duas ou mais mutações no mesmo clone, conhecidas como mutação composta, é responsável por um pior prognóstico, gerando maior resistência a alguns inibidores. **Objetivo:** Este estudo teve por objetivo avaliar a frequência de mutações compostas na coorte de pacientes que apresentaram mutações no domínio quinase pelo sequenciamento direto de Sanger (SS). **Metodologia:** Foram utilizadas 11 amostras de sete pacientes resistentes

tes com LMC que possuíam duas ou mais mutações identificadas por sequenciamento direto, sendo um paciente com três amostras e dois pacientes com duas amostras cada. As mutações foram caracterizadas pela técnica de clonagem e SS, conforme protocolo descrito anteriormente por Khorashad *et al* (2013). Para cada amostra, foram selecionadas de 10 a 15 colônias. **Resultados:** Em nossa coorte de pacientes, 18,3% foram submetidos ao monitoramento para detecção de mutação, onde 73% destes pacientes apresentaram perda da resposta citogenética ou molecular, seguida de não alcance da resposta (20%) e por solicitação médica (7%). Entre os sete pacientes selecionados, somente um deles (14,3%) apresentou mutação composta em todos os clones analisados, e cinco (71,4%), mutação única em cada clone. Duas amostras estudadas, pertencentes a um paciente, apresentaram resultados controversos: em uma delas, foram detectados clones com mutação simples e clones com mutação composta, e na outra amostra, só foram identificados clones com mutação simples. Uma amostra apresentou uma mutação *missense* não identificada pelo SS. A presença de mutação composta não afetou o quadro clínico do paciente. **Discussão e conclusão:** Diferentemente do que foi observado em estudos anteriores, nos quais 70% e 51% das amostras com mais de duas mutações eram mutações compostas, nosso estudo, apesar do baixo número de amostras, observou apenas 14,3% de mutações compostas. O primeiro estudo utilizou a mesma metodologia utilizada no atual estudo, enquanto o segundo utilizou sequenciamento de próxima geração. Nas amostras em que foram observados clones com mutações simples e compostas, acreditamos que possa ter ocorrido recombinação da reação de PCR, conforme sugerido por um grupo australiano em um artigo publicado recentemente. Com isso, acreditamos que faz-se necessário o desenvolvimento de uma outra tecnologia, para que seja possível distinguir entre mutação composta e policlonal, por conta do prognóstico adverso associado às mutações compostas na resistência aos inibidores.

478. DERRAME PLEURAL COMO EFEITO ADVERSO DO TRATAMENTO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA COM DASATINIBE E SEU MANEJO SEM RESPOSTA SATISFATÓRIA

Filho IF, Mandola MB, Ferri RNS, Franco RL, Vecina AFC, Ferrari G, Pasulid F, Fujiki RHM, Pugliesi TB, Cliquet M

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é caracterizada como uma desordem clonal de células-tronco hematopoiéticas com translocação recíproca t(9;22) (q34;q11). Nesta permuta, parte do oncogene ABL1 é transferido para o gene BCR no cromossomo 22, e parte do cromossomo 22 é transferido para o cromossomo 9. O gene resultante, BCR-ABL1, codifica uma proteína quimérica com atividade tirosina-quinase excessiva em relação ao produto normal. A hiperatividade proteica relaciona-se ao estímulo constante de proliferação celular, de inibição da apoptose e de adesão entre as células, o que culmina em transtorno proliferativo maligno. O tratamento para a LMC iniciou-se precocemente ao descobrimento de sua fisiopatologia, tendo seu início em meados do século XIX com fármacos derivados do arsênio. Evoluiu com a radioterapia e com a quimioterapia, que chegou a envolver o bussulfano e a hidroxycarbamida. Em 1998, quase quarenta anos após a descoberta do cromossomo Filadélfia, um tratamento revolucionário emergiu com a introdução do primeiro princípio ativo dirigido ao alvo, os ditos inibidores de tirosina quinase (ITQ). Um exemplo desta classe de fármacos é o dasatinibe, eficaz para muitos em situações nas quais o gene BCR-ABL1 sofreu mutações. É muito utilizado nos casos de diminuição da resposta terapêutica aos fármacos de primeira geração, apesar de ter efeitos indesejáveis em uma variedade de sistemas. Um dos principais efeitos adversos do dasatinibe é ocorrência de derrame pleural em 5-10% dos casos. Esta situação clínica em geral é bem tolerada, mas, em alguns casos, pode impedir o tratamento com esta droga. **Relato de caso:** Relatamos o caso de um paciente de 64 anos, com diagnóstico de LMC há 15 anos, que começou o tratamento com hidroxycarbamida, tendo sido introduzido o tratamento com imatinibe em 2003. O tratamento teve seguimento até 2008, quando apresentou perda de resposta e, a partir de então, foi introduzido uso de nilotinibe. Deu seguimento ao tratamento por 18 meses e, novamente, necessitou de troca do medicamento por diagnóstico de obstrução vascular. Começou o uso de dasatinibe 100 mg/dia apresentando resposta molecular maior. No entanto,

após 15 dias, apresentou derrame pleural, tratado com diuréticos e corticosteroides e suspensão do dasatinibe. Apresentou melhora e, em seguida, recidivas, que acompanharam todo o tratamento. Os repetidos quadros impediram o tratamento adequado e levaram à perda da resposta molecular, chegando a 2,2% de BCR-ABL. Em decorrência dos derrames frequentes, avaliamos a possibilidade de tentativa de resolução do quadro com o procedimento de pleurodese. O procedimento foi realizado em 2014, com melhora transitória, mas, com o aparecimento de derrame contra-lateral acompanhado de importante sintomatologia, viu-se obrigatória a suspensão do dasatinibe e o início do tratamento com interferon-alfa. Ainda não dispomos do BCR-ABL quantitativo para a avaliação da resposta ao último medicamento. **Discussão/conclusão:** O derrame pleural em pacientes que fazem uso de dasatinibe geralmente é bem tolerado, fato este cotidiano em nosso serviço, mas, no caso relatado, impediu a continuidade do uso do medicamento. A pleurodese nos pareceu ser uma alternativa para o tratamento, entretanto, não se mostrou tão eficaz pela evidência de derrame pleural contra-lateral.

479. EPIDEMIOLOGIA DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA NA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM (PA)

Goncalves TS^a, Nunes CM^b, Maia AL^c, Azevedo TB^b, Lemos JAR^a

^a Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

^b Hospital Ophir Loyola, Belém, PA, Brasil

^c Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (HEMOPA), Belém, PA, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa crônica clonal, caracterizando-se por leucocitose com desvio à esquerda, esplenomegalia (variando de 5 a 6 cm, em média) e a translocação entre os cromossomos 9q34 e 22q11, chamado de cromossomo Filadélfia. Nos últimos anos, o tratamento para LMC avançou substancialmente, principalmente com a implantação dos inibidores de tirosina quinases, fazendo com que a resposta ao tratamento fosse melhor e mais dirigida, aumentando desta forma a sobrevida e consequentemente a prevalência dos casos. Contudo, apesar dos avanços tecnológicos e científicos relacionados à LMC, ainda se faz necessário de forma primordial o diagnóstico precoce, assim como o estabelecimento de diretrizes preventivas para tal feito. Desta forma, os estudos epidemiológicos se tornam de suma importância para o direcionamento das políticas em saúde pública. **Objetivos:** Determinar a incidência e prevalência da leucemia mieloide crônica com base no diagnóstico molecular, em conjunto com sua distribuição nas faixas etárias e sexo; determinar a mediana de idade e sua distribuição na ocasião do diagnóstico, e estimar o tempo do curso da doença na ocasião do diagnóstico. **Materiais e métodos:** Este trabalho buscou obter dados sobre a prevalência, incidência, idade, gênero e sobrevida dos pacientes do Hospital Ophir Loyola que necessariamente têm diagnóstico molecular de leucemia mieloide crônica (BCR/ABL positivo), assim como estimar o número de pacientes para os próximos anos. Foram coletados dados de 183 pacientes (idade, gênero, data do diagnóstico e leucometria inicial), além dos resultados moleculares realizados na Fundação. **Resultados:** Foi encontrada uma tendência de crescimento em relação à prevalência e uma tendência constante em relação à incidência. Foram estimados 283 pacientes até 2024 com LMC para a cobertura do hospital em questão, o que representa 67% mais do que se encontra nos dias atuais, número obtido com a fórmula de regressão $Y = -24.449,8462 + (12,2198X)$, com $r^2 = 0,9152$ e $p < 0,001$. Porém, os dados estimados neste estudo estão sujeitos a alterações, uma vez que fatores como a descoberta de novos medicamentos, a resistência dos pacientes ao mesilato de imatinibe, o aumento da população idosa, tendo em vista que se trata de uma doença com maior concentração nesta faixa etária, e a dificuldade de adesão ao tratamento por parte dos pacientes são extremamente influentes nestes dados. Com relação ao fator idade, a proporção, quando comparada à população de Belém, aumenta a partir dos 30 anos. A diferença entre gêneros é quase irrelevante, sendo que o gênero masculino apresenta 55,8% dos pacientes. **Conclusão:** O advento do mesilato de imatinibe melhorou consideravelmente a sobrevida e a qualidade de vida dos pacientes, tendo um impacto de suma importância na prevalência da doença em questão. Desta forma, políticas públicas com relação à saúde, à descentralização e ao aumento da quantidade de médicos hematologistas são indispensáveis para o futuro da saúde pública no País.

480. GENE ABCA7 COMO POSSÍVEL INDICADOR DE RESPOSTA AO TRATAMENTO DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Silva AMB^{a,b}, Maia AL^{a,b}, Vieira RMB^b, Ramos IB^{a,b}, Sarmiento CS^b, Azevedo TC^c, Moreira-Nunes CFA^b, Lemos JAR^{a,b}

^a Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Estado do Pará (HEMOPA), Belém, PA, Brasil

^b Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

^c Hospital Ophir Loyola, Belém, PA, Brasil

O gene ABCA7 é membro da família de transportadores ABC (ATP Binding Cassete); sua proteína é membro da subfamília ABC1, e é detectado predominantemente em células sanguíneas, com expressão maior em leucócitos periféricos, timo, baço e medula óssea. As proteínas pertencentes à família de transportadores ABC são reconhecidas por sua importância no efluxo de drogas nas células. Uma das estratégias para o tratamento da leucemia mieloide crônica é o monitoramento da resposta à terapêutica com os inibidores de tirosina-quinase. O mesilato de imatinibe (MI), medicamento que compõe o tratamento da LMC em primeira linha, é monitorado como forma de avaliação ao tipo de resposta e detecção de eventuais resistências ao tratamento. Este trabalho objetivou quantificar a expressão do gene ABCA7 em células do sangue periférico de pacientes portadores de LMC. A população de estudo foi composta por 111 pacientes do Hospital Ophir Loyola de ambos os sexos, diagnosticados com LMC e em tratamento com MI, e 16 indivíduos controle. A expressão dos genes ABL (controle) e ABCA7 foi quantificada por meio de PCR em tempo real. As respostas dos pacientes ao tratamento foram analisadas por meio do teste Mann-Whitney, por comparação da expressão gênica entre pacientes e controles, admitindo valores significativos de $p < 0,05$. Foi observada pequena diferença na expressão do gene ABCA7 entre pacientes e controles ($p = 0,0412$). Após categorização quanto ao tipo de resposta terapêutica, a expressão gênica dos pacientes com perda de resposta e pacientes ainda sem tratamento foi menor do que o grupo controle ($p = 0,0092$). Portanto, o estudo mostra que o referido gene é um forte candidato a indicador de perda de resposta terapêutica na LMC.

481. THE EFFICACY AND TOLERABILITY OF GENERIC OF IMATINIB IN A VERY SPECIFIC GROUP OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Datogúia TS, Conchon M, Rodrigues JS

Casa de Saúde Santa Marcelina, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Most patients with chronic myeloid leukemia (CML) started to receive a generic formulation of imatinib (IM) in May 2013, available through the Brazilian Public Health System. The lack of information about the tolerability and efficacy of generics was a concern to patients and doctors who had been treating with Glivec®, the original IM from Novartis since 2002. **Objectives:** To evaluate the lack of efficacy and tolerability of generic of IM in CML chronic phase (CP) patients who had achieved a stable major molecular response (MMR) with Glivec® before May 2013. **Methods:** Forty CML-CP patients in MMR defined as BCR-ABL (IS) $\leq 0.1\%$ in at least two consecutive times, who started the generic IM in May 2013. All were receiving 400 mg of generic IM. During 12 months, sampling for quantitative PCR was performed and adverse events were noted. **Results:** The sex ratio was 22 males and 18 females. During the follow-up, 130 BCR-ABL1 to control gene, expressed on the International Scale. Each patient had a median of three quantitative PCRs (one to six). One patient stopped imatinib for personal reasons and one patient presented hepatic toxicity grade 3, and was switched to second generation, without lack of MMR. Among the 38 patients, three had two PCR variations (BCR-ABL1 0.2 to 0.36 IS), and five presented one variation (0.2 to 1.16 IS). The other 30 patients did not have variation on their BCR-ABL1 IS. All of them are in MMR. **Conclusion:** In this specific MMR group, the generic of imatinib was safe and maintained the efficacy. The limited data regarding the generic produces conflicting results, but the lower price of them might health care cost.

482. IN-DEPTH PROTEOMIC ANALYSIS OF BONE MARROW EXOSOMES FROM CHRONIC MYELOID LEUKEMIA PATIENTS REVEALS NEW MOLECULAR MECHANISMS INVOLVED IN LEUKEMOGENESIS

Ribeiro PR^a, Lima L^a, Morgado J^a, Abdelhay E^a, Pizzatti L^b

^a Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^b Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Introduction: Molecular communication between cancer cells and their stroma microenvironment is a key factor for cancer transformation. Alongside classic secretory pathways, it has recently been proposed that small membranous vesicles are alternative mediators of intercellular communication. Exosomes, of endocytic origin released by normal and tumor cells, play an important role in cell-to-cell communication. Exosomes carry an effector-rich proteome with the ability to modulate various functional properties of the recipient cell. Recently in chronic myeloid leukemia (CML), these microvesicles have been identified only in cell lineages, representing a new research field in this leukemia. CML is a myeloproliferative disorder that results from the reciprocal translocation between the ABL oncogene 1, located on chromosome 9, with the BCR gene on chromosome 22. The translocation results in the formation of chimeric BCR-ABL protein, resulting in high constitutive tyrosine kinase activity, a major factor in oncogenic potential in CML. However, the relationship between the leukemic stem cells and the bone marrow microenvironment actually represents new drug targeting strategies, and cell-to-cell communication mediated by exosomes could contribute to new clues regarding this cross talk. Moreover, the isolation and the proteomic analysis of exosomes purified from bone marrow samples from patients could contribute to new molecular and functional information in CML. **Objectives:** This study performed an in-depth quantitative and comparative proteomic analysis with the aim of identifying the proteomic content present in exosomes purified from bone marrow plasma from CML patients and comparing this proteomic profile with exosomes purified from healthy donors. Moreover, this work aimed to obtain information about the possible signaling pathways that may be altered in the samples. **Methodology:** The exosomes were purified by precipitation using the ExoQuick kit, and characterized by flow cytometry with specific antibodies. The protein extracts were performed and the proteomic analysis were performed with label-free proteomic analysis using Synapt HDMS (Waters) mass spectrometry and Protein Lynks software (Waters). System biology data were obtained using MetaCore Gene Go software. Western blot and real-time RT-PCR were performed as validated approaches. **Results:** The results showed that the bone marrow plasma of patients with CML has exosomes with proteomic content differentially expressed between healthy donors. The analysis of protein content of these exosomes by proteomics revealed 341 differentially expressed proteins between samples from patients and healthy donors. The signaling pathways identified as potential markers were the Sonic hedgehog (Shh), signaling pathways, which regulate granulocyte differentiation, oxidative stress, and lipid alterations. **Conclusions:** These findings represent an abnormal signaling between bone marrow stromal cells and hematopoietic stem cells that could be targeted by exosomes released in CML. **Funding:** FAPERJ-PPSUS, FINEP, CNPQ, INCT.

LEUCEMIA LINFOIDE CRÔNICA E OUTRAS DOENÇAS LINFOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS

483. DOENÇA DE CASTLEMAN MULTICÊNTRICA: UM DESAFIO DIAGNÓSTICO

Machado GM^{a,b}, Moura MGM^{a,b}, Vidal DR^{a,b}, Coscarelli PG^{a,b}, Silva CE^{a,b}, Monnerat ALC^{c,d}, Faria MAN^{c,d}, Domingos TA^{c,d}

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

^b Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

^d Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

A doença de Castleman constitui um grupo de desordens linfoproliferativas de etiologia incerta, que está associada à infecção pelos vírus da imunodeficiência humana e herpes vírus 8. Possui duas apresentações clínicas distintas: unicêntrica e multicêntrica. A primeira se caracteriza por envolvimento ganglionar localizado, com apresentação oligoassin-

tomática, enquanto a segunda envolve o acometimento de múltiplas cadeias linfonodais e exuberantes sinais e sintomas sistêmicos. Há dois subtipos histopatológicos: hialino vascular e plasmocitário. A combinação de linfadenopatia generalizada, sinais de inflamação sistêmica e fenômenos autoimunes leva a diversos diagnósticos diferenciais, com abordagens terapêuticas distintas. Com frequência, há retardo no diagnóstico, uma vez que o aspecto histopatológico também pode ser confundido com diversas outras patologias. Apresentamos um caso cuja investigação diagnóstica se prolongou por nove meses, após múltiplas biópsias inconclusivas. O paciente de 60 anos, sexo masculino, iniciou a investigação após três semanas de linfadenopatia generalizada, emagrecimento, rash maculopapular, febre e anemia (de provável etiologia autoimune). Evoluiu com massa cervical associada a sintomas compressivos de vias aéreas superiores e importante aumento de tonsilas. Entre os exames complementares, destacamos sorologia para HIV negativo, FR negativo, FAN não reagente, sorologia para EBV IgG positivo e IgM negativo e VDRL negativo. Foram realizadas três biópsias linfonodais, cuja histopatologia evidenciava expansão de zona interfolicular com apagamento dos folículos linfoides, que, embora não excluíssem doença de Castleman plasmocítica, sugeriam origem reacional (infecciosa ou autoimune). Entre os diagnósticos diferenciais, quatro hipóteses foram difíceis de serem afastadas: doença autoimune indefinida, infecção por EBV crônica, linfoma de baixo grau e doença de Castleman plasmocítica. Aventou-se a realização da quarta biópsia de linfonodo, porém, a mesma foi afastada pelo uso de corticoterapia em altas doses para efeito linfocítico, o que reduz significativamente o rendimento e interpretação da amostra no estudo histopatológico. Optou-se então pela revisão e realização de novas lâminas a partir das peças armazenadas em parafina das biópsias anteriores. Nestas, demonstrou-se a combinação de proliferação plasmocitária e vascular, sem restrição de cadeia leve, e ausência de proliferação compatível com neoplasia de células T, B, NK e precursoras B/T, definindo-se assim o caso. A pesquisa de HHV8 não foi realizada pela necessidade de envio da amostra para outra instituição de análise. Porém, a ausência de células compatíveis com plasmablastos afasta a hipótese de doença de Castleman associada a HHV8. O tratamento instituído com R-CHOP promoveu rápida regressão dos sintomas B e principalmente dos sintomas compressivos, como disfagia e disfonía, relacionados à linfonodomegalia. Concluímos que, enquanto houver indefinição diagnóstica, a possibilidade de doença de Castleman subtipo plasmocitário com histopatologia atípica não deve ser menosprezada. Eventualmente, somente a realização de múltiplas biópsias com cuidadosa revisão dos achados histopatológicos, incluindo imuno-histoquímica, confirmam o diagnóstico.

484. HISTOPLASMOSE DISSEMINADA – RELATO DE CASO

Alves CNR^{a,b}, Rocha RF^c, Fortes IG^a, Silva HB^c, Fonseca AJ^c

^a Hospital da Criança Santo Antônio (HCSA), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Hospital Geral de Roraima (HGR), Boa Vista, RR, Brasil

^c Universidade Federal de Roraima (UFRR), Boa Vista, RR, Brasil

Introdução: A histoplasmose é uma doença fúngica descrita em todo o mundo, causada por inalação dos esporos do *Histoplasma capsulatum*. A forma mais comum de apresentação é pulmonar, e casos de histoplasmose disseminada ocorrem em um em cada dois mil casos de infecção aguda. O diagnóstico da doença disseminada exige alto grau de suspeição clínica, uma vez que os sintomas são gerais e inespecíficos. Os diagnósticos diferenciais são tuberculose, outras doenças fúngicas, sarcoidose e neoplasias. Imunossupressão (uso de imunossupressores, transplante, infecção pelo HIV) constitui o maior fator de risco para a forma disseminada da doença. Ao exame físico, são comuns os achados de linfonodomegalia, hepatoesplenomegalia, lesões de pele e mucosa oral e alterações neurológicas. Pancytopenia em graus variados e elevação das enzimas hepáticas, da LDH e da ferritina indicam disseminação fúngica. Histopatológico, culturas e testes sorológicos são utilizados para o diagnóstico definitivo. **Objetivo:** Descrever caso de histoplasmose disseminada em paciente hígido após um ano de tratamento de leucemia linfocítica crônica B (LLC B). **Material e métodos:** Revisão de prontuário e revisão da literatura buscando artigos nos idiomas português e inglês nos bancos de dados do MEDLINE, SciELO e LILACS dos últimos cinco anos. **Relato do caso:** R.N.S., masculino, 56 anos, natural e procedente de Boa Vista/RR. Internou pela emergência do Hospital Geral de Roraima em junho de 2013 com queixa de diarreia aquosa, calafrios,

febre, perda ponderal de 15 kg e astenia há três semanas, com piora progressiva há quatro dias. História patológica pregressa: HAS com bom controle, LLC-B (por imunofenotipagem) tratado com seis ciclos de COP (maio a setembro de 2012), com ótima resposta, pesquisa de doença residual mínima com 0,48% de linfócitos CD5+ e acompanhamento regular com hematologista. Ao exame físico: regular estado geral, palidez cutânea, taquidispnéia, taquicardia, febril, normotenso, ausculta pulmonar e cardíaca sem alterações, discreta hepatoesplenomegalia, sem linfonodomegalias, sem lesões orais, sem lesões em pele, sem edema. Exames colhidos durante a internação: Raio X de tórax com infiltrado intersticial pulmonar bilateral, Hb: 7,2 g/dL, Ht: 20%, 2.520 leucócitos (2.300 granulócitos), 11.000 plaquetas, LDH: 1.876, creatinina: 4,0 g/dL, hemocultura para germes comuns negativa, PPD negativo, sorologia para calazar, CMV, Epstein barr, hantavirose, HIV e leptospirose negativas. Biópsia de medula óssea compatível com histoplasma e impregnação pela prata metenâmica de Grocott positiva. Desde o primeiro dia de internação em uso de imipenem, vancomicina, sulfametoxazol+trimetropim e anfotericina B. Evoluiu com piora progressiva, insuficiência respiratória aguda, hipotensão refratária e parada cardiorrespiratória irreversível no oitavo dia de internação. Posteriormente, a cultura foi positiva para *Histoplasma sp.* **Conclusão:** A histoplasmose disseminada é uma patologia grave e, por vezes, fulminante, que exige diagnóstico rápido e tratamento imediato. A biópsia de medula óssea pode render diagnóstico por histopatologia em 60% dos casos, e trata-se de um exame de técnica acessível, baixo custo e que permite o correto manejo da doença, além de possibilitar as discussões dos diagnósticos diferenciais.

485. ACHADOS CARIOTÍPICOS E POR FISH NA LEUCEMIA LINFOIDE CRÔNICA (LLC)

Santos G^a, Borri D^a, Aquilino D^a, Figueira SH^a, Ratis CA^a, Fabris CC^a, Santos MFMD^a, Velloso EDRP^{a,b}

^a Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Anormalidades citogenéticas clonais são observadas em 30% dos casos de leucemia linfóide crônica (LLC) 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 do 6q e deleção 17p. As anormalidades citogenéticas se associam a prognóstico, sendo a deleção do 13q a anormalidade citogenética de melhor prognóstico, e a deleção do 17p, a de pior prognóstico. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar o histórico dos achados cariotípicos em LLC em um laboratório hospitalar e do estudo por FISH realizado em laboratórios de apoio, entre maio de 2008 e maio de 2013, e comparar as duas técnicas. **Métodos:** Estudo cariotípico (362 amostras) foi realizado por banda G. Estudo por FISH (54 amostras) foi realizado com dois painéis de sondas, sendo 36 amostras com painel de quatro sondas (deleção 11q, 13q e 17q e trissomia 12) e 18 casos com painel ampliado (4 anteriores e deleção 6q (MYB), IgH, IgH-BCL2 e BCL1-IgH). Trinta e oito casos apresentavam FISH e cariótipo concomitantes. Os resultados seguiram a nomenclaturaISCN. Todos os diagnósticos de LLC foram confirmados por imunofenotipagem. **Resultados:** Dos 362 casos, 69,3% apresentaram-se normais e 30,7% apresentaram alguma anormalidade (sendo 18,51% com uma anormalidade, 3,87% com duas anormalidades e 8,29% os complexos), sendo a trissomia 12 a anormalidade mais frequente (26,1%), seguida das deleções 6q (10,81%), 13q (8,11%), 17p (6,31%) e 11q (5,41%). Resultados anormais no FISH foram observados em 61% e 78% dos casos analisados por painel de quatro sondas e ampliado, respectivamente. A anormalidade mais frequente foi a deleção 13q (41%), seguida pela deleção 11q (19%), trissomia 12 (13%), rearranjo IGH/BCL2 (6%), deleção 17p (4%) e deleção 6q e monossomia 13 (2%). A análise de concordância mostrou que, em 52,7%, as duas técnicas mostraram resultados normais no cariótipo e em FISH, e em 26,2%, resultados anormais no cariótipo não detectáveis no FISH. **Conclusão:** A incidência de anormalidades cariotípicas e por FISH obtidas na revisão de dados históricos é semelhante aos citados na literatura, e mostra a dificuldade da detecção da deleção 13q pela técnica convencional. Em muitos dos casos detectaram-se anormalidades no cariótipo não detectadas pelo FISH, reforçando a necessidade do uso das duas técnicas, que são complementares.

486. RANDOMIZED COMPARISON OF IBRUTINIB VERSUS OFATUMUMAB IN PREVIOUSLY TREATED CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA/SMALL LYMPHOCYTIC LYMPHOMA (CLL/SLL): RESULTS FROM THE PHASE III RESONATE TRIAL

Moreno C^a, Hillmen P^b, Brown JR^c, O'Brien S^d, Barrientos J^e, Reddy NM^f, Tam C^g, Clow F^h, James DF^h, Byrd JCⁱ

^a Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Sant Pau Research Institute, Universidad Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

^b The Leeds Teaching Hospitals, St. James Institute of Oncology, Leeds, United Kingdom

^c Dana-Farber Cancer Institute, Boston, United States

^d University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, United States

^e Hofstra North Shore-LIJ School of Medicine, Hempstead, United States

^f Vanderbilt-Ingram Cancer Center, Nashville, United States

^g Peter MacCallum Cancer Centre and St. Vincent's Hospital, Melbourne, Australia

^h Pharmacyclics, Inc., Sunnyvale, United States

ⁱ The Ohio State University Medical Center, Columbus, United States

Background: Treatment options are limited for patients with CLL/SLL who fail chemoimmunotherapy regimens. In addition, management of previously treated patients unfit for chemoimmunotherapy and those with comorbidities or high-risk features such as del17p and diseases refractory to purine analog-based regimens remain challenging. The authors report the interim results from a phase III randomized study of ibrutinib, a first-in-class, once-daily, oral covalent Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitor compared with ofatumumab in previously treated CLL/SLL. The Data Monitoring Committee recommended that this analysis be considered final, based on meeting the primary endpoint and a key secondary endpoint (overall survival [OS]). **Methods:** Patients with relapsed/refractory CLL/SLL who failed at least one prior therapy received 420 mg oral ibrutinib daily until progression or IV ofatumumab 300/2,000 mg for 12 doses. The primary endpoint was progression-free survival (PFS), assessed by an independent review committee (IRC). Secondary endpoints included OS, IRC-assessed overall response rate (ORR), and safety. **Results:** Of the 391 patients enrolled (median age 67 years; 40% ≥ 70 years; 57% Rai stage III/IV disease; 30% del17p), 195 patients were randomized to ibrutinib and 196 to ofatumumab. Ibrutinib-treated patients had a median of three prior therapies vs. two for ofatumumab. Median follow-up was 9.4 months. Ibrutinib significantly extended PFS (median not reached vs. 8.1 months; HR 0.215, 95% CI 0.146-0.317, $p < 0.0001$; 78.5% risk reduction), including by investigator-assessed PFS (HR 0.133, 95% CI 0.085-0.209), and significantly improved OS (median not reached in either arm; HR 0.434, 95% CI 0.238-0.789, $p = 0.0049$; 57% risk reduction) compared with ofatumumab. Fifty-seven patients randomized to ofatumumab with confirmed progressive disease crossed over to ibrutinib. ORR by IRC was 62.6% with ibrutinib, including 20% partial response with lymphocytosis, vs. 4.1% with ofatumumab. Similar effects were seen in del17p and purine analog-refractory subgroups. In each arm, two patients had confirmed Richter's transformation. The most frequent adverse events (AEs) for ibrutinib vs. ofatumumab were diarrhea (47.7% vs. 17.8%), fatigue (27.7% vs. 29.8%), and nausea (26.2% vs. 18.3%). Atrial fibrillation was more frequent with ibrutinib than with ofatumumab (5.1% vs. 0.5%). Bleeding events, including petechiae (13.8%) and contusions (10.8%), were more common with ibrutinib. Major hemorrhages were reported at a similar frequency of 1% of patients for ibrutinib vs. 1.6% for ofatumumab. Drug discontinuation due to AEs was 4.1% for ibrutinib vs. 3.6% for ofatumumab. With a median time of study of 9.6 months, 86% of patients in the ibrutinib arm were continuing treatment. **Conclusions:** Compared with ofatumumab, ibrutinib significantly improved PFS, OS, and ORR in patients with previously treated CLL/SLL. The effect of ibrutinib on PFS was observed irrespective of baseline clinical or genetic features, including purine analog-refractory disease or del17p. The safety profile of ibrutinib was comparable with that reported previously (Byrd et al. *N Engl J Med.* 2013). These results support ibrutinib as an effective therapy for previously treated CLL.

487. PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO E LABORATORIAL E TRATAMENTO DA TRICOLEUCEMIA EM UM SERVIÇO DE REFERÊNCIA EM RECIFE (PE)

Galindo AV^a, Torquato ACS^a, Leitão PCA^a, Machado CGF^{a,b}

^a Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: Hair cell leukemia (HCL) corresponde a 2-4% das leucemias linfóides, com maior frequência no sexo masculino (5:1). Clinicamente, apresenta sintomas de anemia, hemorragias, infecções, esplenomegalia e hepatomegalia. Laboratorialmente, caracteriza-se por macrocitose, neutropenia, monocitopenia e plaquetopenia. O diagnóstico laboratorial é realizado segundo critérios obrigatórios (tricoleucócitos no sangue periférico/medula óssea - MO e reação citoquímica para a fosfatase ácida tartarato-resistente - FART) e confirmatórios (biopsia de MO infiltrado por células HCL e fibrose reticulínica). Na imunofenotipagem, expressas CD11c, CD25, CD103 e FMC7. **Objetivo geral:** Caracterizar o perfil clínico-epidemiológico e laboratorial da tricoleucemia, bem como critérios diagnósticos e tratamento. **Métodos:** Estudo retrospectivo, descritivo, do tipo série de casos, realizado na Fundação HEMOPE - Recife/PE no período de janeiro de 2002 a abril de 2014. Os dados foram coletados de prontuário, na ocasião do diagnóstico. **Resultados:** Foram analisados 50 casos, sendo 84% do sexo masculino (grupo 1) e 16% do sexo feminino (grupo 2). A idade média foi de 55 ± 12,3 anos no grupo 1 e 48 ± 11,01 anos no grupo 2. Quanto à etnia, prevaleceram os que se auto-declararam pardos (57,14% grupo 1/ 62,5% grupo 2). A exposição a produtos químicos não foi relatada em nenhum dos grupos. O quadro clínico no grupo 1 foi: anemia (88,09%), astenia (52,38%), anorexia (52,38%), infecções recorrentes (40,47%) e hemorragias (30,95%), esplenomegalia (78,57%), hepatomegalia (38,09%) e adenomegalia (7,14%). Já no grupo 2 foi: anemia (100%), infecções recorrentes (62,5%), anorexia (37,58%), hemorragias (2%), esplenomegalia (50%), hepatomegalia (25%) e adenomegalia (25%). Quanto aos índices hematimétricos, o grupo 1 apresentou macrocitose (Hb = 8,67 ± 2,75/ VCM = 96,03 ± 8,76) em 30,95%, neutropenia/monocitopenia (leuco = 2.940 ± 2.820) em 80,95% e plaquetopenia (59,22 ± 27,22) em 100% dos casos. O grupo 2 não apresentou macrocitose, neutropenia ou monocitopenia (Hb = 9,34 ± 2,01/ VCM = 90,42 ± 4,37/ leuco = 2.570 ± 920), sendo evidenciada plaquetopenia (80,12 ± 48,97) em 87,50% dos casos. Quanto aos critérios diagnósticos, no grupo 1 foi observada a presença de tricoleucócitos no sangue periférico em todos os pacientes, e a FART foi positiva em 77,78%. Já no grupo 2, os tricoleucócitos foram observados em todos os pacientes, e a FART foi positiva em 100%. Quanto aos exames confirmatórios, a biopsia de MO no grupo 1 revelou a infiltração de tricoleucócitos em 100% dos pacientes e fibrose reticulínica em 92,86%, enquanto, no grupo 2, a infiltração foi evidenciada em 100% dos pacientes, e fibrose reticulínica em 87,5%. Quanto ao estudo imunofenotípico, no grupo 1, foram constatadas as expressões do CD11c (59,52%), CD25 (92,86%), CD103 (78,57%) e FMC7 (80,95%). Já no grupo 2, foram constatadas as expressões positivas do CD11c (37,5%), CD25 (62,4%), CD103 (62,4%) e FMC7 (75%). A terapêutica para o grupo 1 foi a terapia combinada (esplenectomia+IFN-α) em 4,76%, a esplenectomia em 9,52%, IFN-α em 35,71% e cladribina em 59,52% dos pacientes acompanhados neste serviço. Já no grupo 2, 50% realizaram terapia com IFN-α, e 50% com cladribina. **Conclusão:** Este estudo corrobora que o perfil clínico-epidemiológico e laboratorial e o tratamento da tricoleucemia encontrados neste serviço estão em acordo com o que diz a literatura.

488. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DO CD200 NA LLC-B E DEMAIS NEOPLASIAS LINFOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS-B: CORRELAÇÃO ENTRE DIAGNÓSTICO CLÍNICO E LABORATORIAL

Torquato ACS^a, Galindo AV^a, Leitão PCA^a, Machado CGF^{a,b}

^a Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: O diagnóstico diferencial entre leucemia linfocítica crônica-B (LLC-B) e demais neoplasias linfoproliferativas crônicas-B (NLPC-B) é importante, devendo ser considerada a fase leucêmica dos linfomas não Hodgkin (LNH). Para isso, é necessária uma boa avaliação, levando em consideração o quadro clínico, as características citomorfológicas e histológicas, as anormalidades cromossômicas e o perfil imunofenotípico das células leucêmicas. O CD200 é uma glicoproteína de membrana que tem sua expressão em vários tipos de células, incluindo células B. A expressão de CD200 é habitualmente elevada na LLC-B quando comparada com células B normais, e a avaliação da expressão do CD200 em outras NLPC-B pode ser útil no diagnóstico diferencial destas doenças. **Objetivo:** Verificar as características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais da LLC-B e demais NLPC-B, incluindo a expressão do CD 200. **Métodos:** Estudo retrospectivo, observacional, descritivo, do tipo série

de casos com pacientes adultos, de ambos os sexos, com diagnóstico de LLC-B e outras NLPC-B, no período de setembro de 2011 a julho de 2013. **Resultados:** Foram analisados 118 pacientes, sendo 76 portadores de LLC-B e 42 portadores de outras NLPC-B. Nos pacientes com LLC-B, a idade média geral encontrada foi de $69,7 \pm 12$ anos, enquanto, nos pacientes com outras NLPC-B, a idade média geral encontrada foi de $64,7 \pm 7$ anos. Em relação ao sexo, nos pacientes com LLC-B, 57,89% eram do sexo masculino, e 42,10%, do sexo feminino; já nas outras NLPC-B, 52,38% eram do sexo masculino, e 47,61% eram do sexo feminino. Quanto à raça/cor, predominaram os que se auto-declararam pardos nos dois grupos de pacientes: 86,84% na LLC-B e 85,71% nas outras NLPC-B. O estadiamento de Binet nos pacientes com LLC-B encontrado no momento do diagnóstico foi: 59,21% no estágio A, 14,47% no estágio B e 27,63% no estágio C. No grupo das outras NLPC-B, todos os pacientes foram diagnosticados com linfoma não Hodgkin B no estágio IV. No quadro clínico, adenomegalia (em qualquer cadeia linfática) foi evidenciada em 39,47% dos pacientes com LLC-B e em 33,33% nos pacientes com outras NLPC-B. Esplenomegalia foi observada em 36,84% nos casos de LLC-B, enquanto nas outras NLPC-B, foi observada em 54,76%. Os sintomas B (febre, sudorese noturna e perda ponderal) ocorreram em 13,15% dos pacientes com LLC-B e em 28,57% dos pacientes com outras NLPC-B. No grupo dos pacientes com LLC-B, a média de leucócitos no sangue periférico na ocasião do diagnóstico foi de $77.418/uL$, com média relativa de 80,3% linfócitos e 13,4% neutrófilos. Já no grupo das outras NLPC-B, a média de leucócitos no sangue periférico na ocasião do diagnóstico foi de $58.120/uL$, com média relativa de 68,6% linfócitos e 16,6% neutrófilos. Quanto à expressão do CD200, foi positiva em todos os pacientes com LLC-B, sendo quantificado em um valor médio de 83 ± 4 . Entretanto, nos pacientes com outras NLPC-B, o CD200 foi negativo em 16,28% dos casos, tendo um valor médio de 47 ± 24 nos casos em que foi positivo; logo, o CD200 apresentou maior expressão na LLC-B em relação a outras NLPC-B ($p = 0,07$). **Conclusões:** Neste estudo, a avaliação da expressão do CD200, associada a demais variáveis clínicas e laboratoriais, confirmou a sua importância no diagnóstico diferencial entre a LLC-B e demais NLPC-B.

489. BAIXA EXPRESSÃO DA METILTRANSFERASE SMYD3 ESTÁ ASSOCIADA À CONTAGEM ELEVADA DE LEUCÓCITOS E A ANORMALIDADES CITOGENÉTICAS EM PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOIDE CRÔNICA

Santos WO^a, Rabello DA^a, Piazeria F^a, Lucena-Araujo AR^b, Oliveira FM^c, Haddad R^a, Rego EM^c, Pittella-Silva F^a, Saldanha-Araujo F^a

^a Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil

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

^c Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

A leucemia linfóide crônica (LLC) é uma doença linfoproliferativa que cursa com acúmulo de células B monoclonais na medula óssea, sangue periférico, linfonodos e baço. O curso clínico da LLC é bastante variável, sendo os sintomas mais comuns o acúmulo de linfócitos B e, nos casos mais graves, a ocorrência de hepatomegalia, esplenomegalia, anemia e trombocitopenia. A LLC, de modo geral, apresenta-se indolente; entretanto, alguns pacientes apresentam progressão clínica mais acelerada, necessitando de tratamento precoce e, em algumas situações, de intervenção clínica mais agressiva. Embora a fisiopatologia da doença seja desconhecida, alguns marcadores prognósticos da LLC são bem definidos, sendo a expressão de ZAP70+ um dos mais avaliados. Atualmente, a fisiopatologia de diversos tipos de neoplasias tem sido relacionada a mecanismos epigenéticos. Nessa linha, nosso grupo demonstrou recentemente que a expressão elevada da metiltransferase SMYD3 é indicativa de mau prognóstico em pacientes com leucemia linfóide aguda. No presente trabalho, investigamos por PCR em tempo real se há expressão diferencial do gene SMYD3 entre pacientes com LLC ($n = 59$) e indivíduos saudáveis ($n = 10$). Além disso, relacionamos os dados de expressão gênica com achados laboratoriais, como contagem de plaquetas, contagem de leucócitos, expressão da proteína ZAP-70 e resultado citogenético. Não houve diferença de expressão do gene SMYD3 entre as células B de pacientes com LLC e indivíduos saudáveis. Entretanto, a expressão desse gene em pacientes com LLC apresentou um grande desvio padrão, o que nos levou a determinar a expressão mediana desse gene e estratificar a amostragem em pacientes com baixa e alta expressão de SMYD3. A expressão diferencial de SMYD3 parece não influenciar o número de plaquetas. Embora a diferença de expressão da proteína ZAP-70 não te-

nhá sido estatisticamente significativa entre os pacientes que apresentam baixa e elevada expressão de SMYD3, nos casos com baixa expressão desse gene a expressão média de ZAP-70 foi 20% maior que a encontrada nos casos em que há alta expressão. Interessantemente, os pacientes que possuem baixa expressão de SMYD3 apresentam maior número de leucócitos quando comparados àqueles com elevada expressão desse gene ($p = 0,0080$). Além disso, o teste exato de Fisher demonstrou que a baixa expressão do gene SMYD3 está associada à presença de anormalidades citogenéticas em pacientes com LLC (RR = 0,3214 [IC: 0,09728-1,062]; $p = 0,0431$). Os resultados obtidos nesse estudo demonstram que a baixa expressão do gene SMYD3 está associada ao aumento de leucócitos circulantes, um dado laboratorial desfavorável na LLC. Além disso, a menor expressão de SMYD3 está significativamente correlacionada à aquisição de anormalidades citogenéticas em pacientes com LLC. Por fim, esses achados poderão servir de base para novas investigações que visem ao desenvolvimento de terapia personalizada para pacientes com LLC, especialmente com vistas a impedir a aquisição de anormalidades cariotípicas nesses pacientes.

490. DOENÇA DE ROSAI-DORFMAN – RELATO DE TRÊS CASOS

Apa AG, Monnerat A, Oviedo CAO, Mercante DR, Orlando EP, Nucci FM, Policarpo F, Daza LJ, Lusia LKP, Praxedes MK

Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Introdução: Adenomegalias periféricas são achados clínicos comuns, geralmente relacionados a causas reacionais, como processos infecciosos e inflamatórios. Entretanto, a etiologia maligna deve ser considerada nos casos em que são volumosas, progressivas ou generalizadas, ou quando são associadas à hepato-esplenomegalia e sintomas constitucionais. Entre as doenças linfoproliferativas reacionais, capazes de simular neoplasias malignas, como os linfomas, destaca-se a doença de Rosai-Dorfman (DRD), ou histiocitose sinusal com linfadenopatia maciça, na qual ocorre uma proliferação e acúmulo de histiócitos nos linfonodos ou em outros tecidos, causando adenomegalias ou massas. Sua etiologia é desconhecida, e a evolução costuma ser auto-limitada, com regressão espontânea em parte dos casos. A forma mais frequente de apresentação é a adenomegalia cervical volumosa, associada ou não a febre, perda de peso, anemia, leucocitose, hipergamaglobulinemia policlonal e VHS acelerado. Até 40% dos casos têm apresentação extranodal, predominando na região da cabeça e pescoço. **Caso 1:** Mulher parda, 57 anos, há um ano com volumosas adenomegalias cervicais bilaterais, com períodos de exacerbação e remissão espontâneas, além de hipergamaglobulinemia policlonal e anemia normocítica normocrômica. As tomografias computadorizadas (TCs) mostraram adenomegalias cervicais, axilares, inguinais, intratorácicas e abdominais. Uma biópsia de linfonodo diagnosticou DRD. Tratada com prednisona (PNS) 1 mg/kg/dia desde fevereiro de 2012, obteve melhora clínica inicial e recidiva durante a retirada do corticoide. Foi reintroduzida a PNS e associada ciclofosfamida (CTX) 50 mg/dia vo em junho de 2012, com normalização da TC e suspensão do tratamento. **Caso 2:** Homem negro, 64 anos, apresentando adenomegalias cervicais e supraclaviculares volumosas, indolores desde 2007. Uma biópsia de linfonodo cervical, realizada em 2011, diagnosticou DRD. Os exames mostravam anemia normocítica e hipergamaglobulinemia policlonal, e nas TCs havia adenomegalias cervicais, supraclaviculares, axilares e mediastínicas. Tratado com PNS 1 mg/kg/dia a partir de dezembro de 2013, por razões estéticas, obteve ótima resposta e encontra-se em fase de retirada do corticoide. **Caso 3:** Mulher parda de 18 anos, submetida, em 2010 e 2011, a duas neurocirurgias descompressivas para retirada de tumor epidural na medula torácica, diagnosticado como DRD, após ficar parapléjica. Não apresentava adenomegalias ou hepato-esplenomegalia. Depois da segunda recidiva, foi submetida à radioterapia em agosto de 2011, com involução temporária do quadro até maio de 2012, quando houve contraindicação de nova neurocirurgia. Tratada com pulsos de dexametasona por um mês, ela obteve melhora parcial e, em seguida, foi medicada com PNS 1 mg/kg/dia e CTX 50 mg/dia vo, com remissão completa temporária. Após várias tentativas de retirada da medicação, permanece assintomática, em uso de CTX 50 mg/dia. **Conclusão:** Apresentamos três casos de DRD que simularam neoplasias malignas, dois com apresentação nodal e um caso extra-nodal, no SNC. Como a doença é rara, não há consenso sobre a melhor terapêutica, quando esta se faz necessária. A mortalidade e a mortalidade estão relacionadas à localização da DRD e à potencial lesão de tecidos nobres.

Referências:

1. Kalina T, Flores-Montero J, Van der Velden VH, Martin-Ayuso M, Böttcher S, Ritgen M, et al. EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia*. 2012;26(9):1986-2010.
2. Van Dongen JJ, Lhermitte L, Böttcher S, Almeida J, Van der Velden VH, Flores-Montero J, et al. Euroflow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocyte. *Leukemia*. 2012;26(9):1908-75.

491. BICLONAL CHRONIC LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASE (CLPD) DIAGNOSIS BY EIGHT COLOR IMMUNOPHENOTYPING IN PLEURAL EFFUSION

Ikoma MRV^{a,b,c}, Penitenti M^b, Marques C^b, Conte JE^b, Francheschi FLS^{a,c}, Segalla JG^a, Beato CA^{a,c}, Mauad MA^{a,c}, Colturato VAR^{a,c}

^a Centro de Hematologia e Oncologia de Bauru, Bauru, SP, Brazil

^b Laboratório de Citometria de Fluxo, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

^c Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

Introduction: Eight-color immunophenotyping is a robust diagnosis platform for hematopoietic malignancies. **Case report:** An 87-year-old female presented with thrombosis of right iliac vein. She did not have systemic symptoms, and physical examination demonstrated only inferior right member edema and reduction of right pulmonary vesicular murmur. Chest CT showed an important right pleural effusion, without mediastinal lymphadenopathy. Only a large retroperitoneal tumor mass was observed in abdominal CT. Considering her age, cardiologic disease, and anti-coagulant therapy, it was decided to try to diagnose by pleural effusion analysis, to avoid a diagnostic laparotomy. **Material and methods:** A 4 mL sample of pleural effusion collected under Transfix™ in two tubes (2 mL/tube), and was processed two hours after had been collected. Samples were processed as previously described.¹ An eight-color panel of monoclonal antibodies (MoAb) was used, which includes two tubes based in Euroflow panels² (screening and first tube for CLPD), added to four other tubes of MoAb combinations to complete the immunophenotype profile. The following were used as backbone markers: CD 19 PE-Cy7, CD 20PB, CD 45PO, CD 5 PerCP Cy5.5, CD 10 PE, and CD 10 APC. MoAb used: CD8+SmLambda, CD 23, FMC-7, CD 103, cylg, and cyBcl2 in FITC; CD56+ SmKappa, CD 25 in PE; CD 79 b in PerCP Cy5.5; CD3, CD 200, CD11c in APC; TCRgd in PE-Cy7; CD 38, CD 43, SmLambda in APCH7; and SmKappa in PB. The samples were acquired in an eight color FACSCanto II (BD)™ flow cytometer. This analysis acquired 50,000 events/tube by FACSDiva (BD)™ software. Data analysis was done using Infinicyt (Cytognos)™ software. **Results:** This study observed 23.7% B, with two distinct phenotypes. The first represented 27% of the total B cell population, had small size and internal complexity, and expressed CD 45+/+, CD 19+, CD 20+, CD 23 +/- heterogeneous, CD 79 b +/- heterogeneous, SmLambda+, CD10+, and bcl-2+. This population was negative for SmKappa, CD 5, FMC-7, CD 11c, CD 25, CD 38, CD 43, CD 103, and CD 200. The other population accounted for 73% of B cells, showed small size and intermediate complexity, with positivity for CD 45+, CD19+ dim, CD 20+, CD 79 b+, SmKappa+, CD11c+, and bcl2+, and was negative for SmLambda, CD5, CD 10, FMC-7, CD 23, CD 25, CD 38, CD43, CD 103, and CD 200. Subsequently, the same immunophenotype profile was found in 6.7% of whole bone marrow cells. Immunophenotyping diagnosis consisted of: Biclinal Cell CLPD with a B Lambda component, corresponding to Follicular Lymphoma, and the other, a B Kappa unclassifiable component. **Conclusion:** This case illustrates the potential of organic fluid immunophenotyping as a minimally invasive diagnosis strategy. The use of eight-color multiparametric flow cytometry made easier the study of different clonality from the same cellular lineage.

References:

1. Kalina T, Flores-Montero J, Van der Velden VHJ, Martin-Ayuso M, Böttcher S, Ritgen M, et al. EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia*. 2012;26(9):1986-2010.
2. Van Dongen JJ, Lhermitte L, Böttcher S, Almeida J, Van der Velden VH, Flores-Montero J, et al. Euroflow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocyte. *Leukemia*. 2012;26(9):1908-75.

492. A IMPORTÂNCIA DOS NOVOS MARCADORES CELULARES EM CITOMETRIA DE FLUXO PARA O DIAGNÓSTICO DAS NEOPLASIAS LINFOIDES B MADURAS

Percout PO, Benevides TCL, Duarte GBO, Cunha FGP, Moura MS, Dias MA, Paul P, Fernandes EMSA, Metzke K, Lorand-Metze I

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

Introdução: O diagnóstico de leucemia linfóide crônica (LLC) é baseado em dados de contagem do sangue periférico (SP) e estudo de imunofenotipagem. Por conta da ocorrência frequente de casos com morfologia atípica e fenótipos anormais, a pontuação Matutes foi estabelecida para o diagnóstico diferencial entre LLC e outras neoplasias de células B maduras leucêmicas. Atualmente, uma série de novos marcadores celulares estão ganhando importância no contexto das síndromes linfoproliferativas B; logo, a avaliação destes poderá acrescentar informações que auxiliarão no diagnóstico diferencial destas entidades. **Metodologia:** Estudo retrospectivo, descritivo, sendo revista a imunofenotipagem de sangue periférico de 75 pacientes portadores de neoplasia de células B maduras, no período de junho de 2012 a novembro de 2013, a fim de avaliar a expressão de antígenos que não estão presentes no escore de Matutes (CD10, CD11c, CD19, CD20, CD38, CD123 e CD200). A imunofenotipagem (IMF) foi realizada em citômetro FACS Calibur, com um painel de quatro cores em dois tempos: combinação de triagem e painel secundário. **Resultados:** A amostra foi composta por 34 (45,3%) homens e 41 (54,7%) mulheres com mediana de idade de 68 anos. Foram avaliados 62 casos de leucemia linfocítica crônica (LLC); três de linfoma linfoplasmocítico (LLP); quatro de linfoma de células do manto (LCM) e seis de linfoma de zona marginal (LZM). CD200, CD20, CD10 e CD19 conseguiram diferenciar de forma significativa os grupos de neoplasias ($p < 0,0005$, $p < 0,0005$, $p = 0,006$ e $p < 0,005$; respectivamente). O número de pontos no escore de Matutes teve correlação positiva com a IMF do CD19, CD200, CD23 e CD5 e correlação inversa com a IMF de CD38 CD79b e imunoglobulina de superfície. Observou-se também que o CD200, junto com CD19 e CD20, conseguiu diagnosticar 92% (61/62) dos casos de LLC e, entre os casos de LCM, LZM e LLP, apenas um foi diagnosticado erroneamente. **Conclusão:** A avaliação de novos marcadores celulares tem grande impacto no diagnóstico das neoplasias de células B maduras e pode ser adicionada aos painéis de rotina dos laboratórios, permitindo, futuramente, a validação de novos escores e criação de novas estratégias para o diagnóstico diferencial destas neoplasias. A variação da expressão destes marcadores celulares nas diferentes entidades patológicas pode ser usada como alvo terapêutico e para a criação de novos índices prognósticos.

493. TRANSFORMAÇÃO DA LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA EM LINFOMA DE HODGKIN. UMA VARIANTE DA SÍNDROME DE RICHTER – RELATO DE CASO

Ribeiro MR^a, Nascimento C^a, Gentili AC^b, Pinto LW^b, Gonzaga Y^a

^a Serviço de Hematologia, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Serviço de Anatomia Patológica, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A síndrome de Richter (SR) caracteriza-se pelo surgimento de uma segunda neoplasia linfóide agressiva em um paciente com leucemia linfocítica crônica/linfoma linfocítico (LLC/LL). A incidência desta complicação é de cerca de 2%, com a maioria dos casos correspondendo à transformação para linfoma difuso de grandes células B (LNHDGCB), associado a prognóstico desfavorável, com sobrevida mediana de oito meses. Mais raramente, pode haver transformação histológica para linfoma de Hodgkin (LH), sendo que os poucos casos descritos parecem apontar para uma sobrevida melhor do que nos casos de transformação para LNHDGCB, porém bastante inferior quando comparada a dos pacientes com LH “de novo”. Relatamos o caso de um paciente com LLC e síndrome de Richter, com transformação para linfoma de Hodgkin clássico. **Caso:** Paciente masculino, 66 anos, diagnóstico de LLC RAI I em março 2009, sem indicação de início de tratamento específico. Permaneceu em acompanhamento clínico e laboratorial até maio de 2011, quando apresentou elevação expressiva na contagem de linfócitos, associada a trombocitopenia, aumento das linfonomegalias e esplenomegalia. Realizou tratamento com seis ciclos de fludarabina e ciclofosfamida até outubro de 2011, apresentando normalização da contagem de linfócitos e plaquetas e desaparecimento das linfonomegalias e da esplenomegalia. Manteve-se assintomático até fevereiro de 2014, quando apresentou queda do estado geral, sintomas B (febre

diária, perda ponderal e sudorese noturna), esplenomegalia e elevação de LDH, sugerindo diagnóstico de síndrome de Richter. Tomografia por emissão de positrons (PET-TC) evidenciou hiper captação em diversas cadeias linfonodais, acima e abaixo do diafragma (todas com SUV > 10), destacando-se volumosa massa retroperitoneal. Realizou-se biópsia desta massa, com diagnóstico de linfoma de Hodgkin clássico, CD30 e CD15+ (imunohistoquímica negativa para CD20, ALK e CD3). A biópsia de medula óssea foi negativa para neoplasia, configurando estadiamento Ann Arbor IIIBS. Iniciado tratamento com esquema ABVD, porém, paciente apresentou intercorrência infecciosa grave (encefalite por CMV) e foi considerado inelutável para prosseguir com quimioterapia. Atualmente, encontra-se em acompanhamento ambulatorial, em tratamento paliativo. **Discussão:** A variante Hodgkin para síndrome de Richter é bastante rara, com cerca de 90 casos descritos na literatura. Acomete predominantemente homens na sétima década de vida, e o intervalo entre o diagnóstico da LLC e do LH é de cerca de quatro anos. A sobrevida mediana desses pacientes é de 1,7 ano, bastante inferior aos pacientes com LH "de novo". O melhor tratamento para pacientes com LLC e transformação para LH ainda não foi estabelecido. Pacientes tratados com fludarabina previamente parecem ter uma sobrevida menor que a de pacientes que não receberam esse tratamento, sendo uma das possíveis explicações a imunossupressão e a relação do LH com EBV nesses pacientes. Nosso paciente apresentou encefalite por CMV, complicação infecciosa relacionada a grave imunossupressão celular. **Conclusão:** A transformação da LLC em LH é uma complicação rara, apresenta curso clínico agressivo e prognóstico desfavorável com tratamentos convencionais. Mais estudos são necessários para determinar fatores de risco e a melhor abordagem para esta complicação.

494. FREQUÊNCIA DA LINFOCITOSE B MONOCLONAL EM 147 INDIVÍDUOS DE ORIGEM NIPÔNICA RESIDENTES NA CIDADE DE SÃO PAULO

Faria MF^a, Almeida J^b, Kimura EY^a, Borges F^a, Koulieris E^b, Guirao FP^a, Dighiero G^c, Rodrigues CA^a, Orfao A^b, Yamamoto M^a

^a Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Cancer Research Centre (IBMCC, CSIC-USAL), Institute of Biomedical Research of Salamanca (IBSAL), Cytometry Service and Department of Medicine, University of Salamanca, Salamanca, Espanha

^c Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguai

Introdução: Linfocitose B monoclonal (LBM) é definida pela presença de $5 \times 10^9/L$ células B clonais em sangue periférico (SP) em indivíduos saudáveis. A sua frequência varia de 5 a 12% em ocidentais, dependendo da sensibilidade do método usado. A LBM com fenótipo de leucemia linfocítica crônica (LLC) tem sido relacionada com a progressão para LLC, na frequência de 1% ao ano. Adicionalmente, a LLC mostra diferenças clínicas e epidemiológicas em diferentes etnias, como a baixa incidência em indivíduos orientais, mesmo entre os residentes no Ocidente. Avaliação da LBM em indivíduos orientais deve contribuir para o esclarecimento da etiopatogenia da LLC. **Objetivos:** Avaliar a frequência da LBM em indivíduos saudáveis de origem nipônica residentes na cidade de São Paulo. **Métodos:** Foram estudados 147 voluntários sem miscigenação racial, idade ≥ 40 anos (mediana 66, var. 40-88 anos), 59% do gênero feminino. Amostras de SP em ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) foram usadas para hemograma e imunofenotipagem por citometria de fluxo (marcação de oito cores). Utilizou-se o método "Bulky-lyse" usando painel de anticorpos: lambda, CD8, CD23/FITC; kappa, CD10, CD56/PE; CD5, CD79b/PerCPCy5; CD19PECy7; CD3, CD5/APC; CD38, CD43/APCH7; CD45PacOrange; CD4, CD20/PacBlue. Aquisição mediana de eventos foi 5.000.000 (648.250-7.933.086). Foi definido clone LBM quando havia pelo menos 30 eventos no grupo. **Resultados:** Os valores médios foram: hemoglobina $14,6 \pm 1,3$ g/dL ($11,2-18$ g/dL), plaquetas $233 \pm 61 \times 10^9/L$ ($137-492 \times 10^9/L$), leucócitos $6,0 \pm 1,6 \times 10^9/L$ ($3,1-14,0 \times 10^9/L$), linfócitos $1,7 \pm 0,5 \times 10^9/L$ ($0,6-4,0 \times 10^9/L$), linfócitos T $1,1 \pm 0,5 \times 10^9/L$ ($0,3-2,9 \times 10^9/L$), TCD4+ $65 \pm 11\%$ (32-86%) e TCD8+ $30 \pm 10\%$ (6-60%), relação CD4/CD8 $2,7 \pm 1,6$ (0,5-12,6), células B0, $18 \pm 0,12 \times 10^9/L$ ($0,003-0,84 \times 10^9/L$) e relação kappa/lambda $1,4 \pm 0,2$ (0,8-3,5). Foi detectada LBM em 8% dos casos (12/147). Todos os clones eram de fenótipo LLC (6 biclonais). O valor mediano do clone LBM foi 0,05% (0,01-0,42%) das células B e $90,9 \times 10^3/L$ ($28,9-551,2 \times 10^3/L$). A frequência da LBM mostrou aumento progressivo com a idade: 4,7% (3/64) nos 65 anos (GI); 8,5% (4/47) nos indivíduos entre 65 e 74 anos (GII) e 13,9% (5/36) nos ≥ 75 anos (GIII). Paralelamente, houve redução progressiva nas médias de células B totais $\times 10^9/L$ (GI = $0,213 \pm 0,159$, GII = $0,187 \pm 0,103$ e GIII = $0,136 \pm 0,09$) (GIxGII p = 0,7; GIxGIII p = 0,007; GIIxGIII

p = 0,015). O grupo muito idoso (GIII) apresentou maior frequência de LBM em relação aos demais ($13,9$ vs $6,5\%$) e significativamente menor frequência de células B totais ($0,136 \pm 0,09$ vs $0,202 \pm 0,139 \times 10^9/L$, p = 0,009). Quanto ao tamanho do clone LBM, não houve diferença entre os casos do GIII (n = 5) e outros (n = 7), com mediana de $94,4 \times 10^3/L$ ($32,9-551,2 \times 10^3/L$) e $72,9 \times 10^3/L$ ($28,9-408,6 \times 10^3/L$), respectivamente. Na avaliação da sensibilidade da técnica usada, a frequência da LBM foi 11,7% nos que tinham $\geq 5.000.000$ eventos totais adquiridos. **Conclusão:** A frequência das LBM neste grupo foi semelhante aos dados de literatura. Foram observados aumento progressivo da LBM e redução progressiva da contagem de células B com a idade. Todas as LBM detectadas eram clone LLC. Todos os clones tinham tamanhos abaixo do valor de corte da literatura ($< 0,5 \times 10^9/L$) sugerido para risco de evolução para LLC. Maior casuística é necessária para confirmação destes resultados preliminares. **Agradecimentos:** FAPESP (2010/17668-6), CAPES, Hospital Santa Cruz, IOP/GRAACC.

495. LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA: FREQUÊNCIA E TIPO DE ALTERAÇÕES GENÉTICAS DETECTADAS POR FISH EM 210 CASOS

Dourado D^a, Catelani AL^a, Noronha TR^b, Chauffaille ML^{a,b}

^a Setor de Citogenética, Fleury Medicina e Saúde, São Paulo, SP, Brasil

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

A leucemia linfocítica crônica (LLC) é neoplasia linfoproliferativa que acomete mais frequentemente homens, em geral, com idade avançada (rara abaixo de 30 anos) e apresenta curso clínico variável. A maioria dos pacientes tem sido diagnosticada em fase precoce, não necessitando, por conseguinte, de tratamento – apenas de acompanhamento. Porém, outros apresentam doença agressiva, exigindo intervenção terapêutica com progressão livre de doença e sobrevida global curta. Diante da necessidade de se identificarem fatores preditivos do curso clínico, entre os fatores prognósticos (estadiamento de Rai e Binet, beta-2-microglobulina, tempo de duplicação de linfócitos, ZAP70, mutação da região variável do gene IGH@, CD38 etc.) figuram as alterações cromossômicas que podem ser detectadas pelo cariótipo por banda G (40% dos casos) ou por hibridação *in situ* por fluorescência (FISH)(80%). As aberrações genômicas em LLC detectadas por FISH são fatores independentes para prever progressão e sobrevida. Além disso, nova ferramenta de investigação, tal como *next generation sequencing*, identifica mutações previamente não descritas que, por vezes, se correlacionam às aberrações cromossômicas. Entretanto, há poucos estudos em nosso meio descrevendo a frequência e os tipos de alterações detectadas por FISH, e é esse, portanto, o objetivo do presente relato. Foram selecionados 210 casos de LLC diagnosticados conforme os critérios da OMS, entre janeiro de 2013 e maio 2014, e para os quais foi solicitado FISH para as alterações genéticas da doença. A média de idade dos pacientes foi 62,5 anos, e mediana 62; relação H:M = 1,4:1. A alteração cromossômica mais frequente foi a deleção 13q14, observada em 75 (36,3%) casos; seguida pela trissomia 12, observada em 39 (18,6%); deleção 17p ou gene TP53, encontrada em 27 (13,3%) casos; deleção 11q ou gene ATM, em 25 (12,4%) casos; deleção, rearranjo ou cópia extra do gene IGH@ foi observada em 15 casos (7,1%); outras anomalias como deleção LAMP, deleção MYB e deleção BCL2 foram encontradas em nove (4,3%) casos. Algumas anomalias foram identificadas isoladamente, e outras em associação. Ao comparar esses achados com grandes séries internacionais, observa-se que a taxa de detecção de anormalidades foi similar, e que há pequenas variações nas frequências de uma ou outra aberração. Vários estudos têm avaliado o impacto das anormalidades citogenéticas na resposta a determinadas abordagens terapêuticas, por exemplo, a deleção do gene TP53 que se associa à falha no tratamento com agentes alquilantes e fludarabina, com consequente curta sobrevida. Nesse contexto, a identificação dos pacientes que se beneficiam de tratamento dirigido foi plenamente satisfeita.

496. AVALIAÇÃO DO MECANISMO APOPTÓTICO EM PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA

Gomes LC^a, Sousa LP^a, Sabino AP^a, Araújo SSS^b, Carvalho MDC^a

^a Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

A leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma doença heterogênea caracterizada pelo acúmulo de linfócitos no corpo. A LLC tem maior incidência em

indivíduos idosos, e a expectativa de vida é geralmente curta. Os marcadores prognósticos têm alto poder de determinação no estadiamento da doença e são muito importantes para determinar o subtipo da doença. Além disso, o fator prognóstico é essencial para determinar a linha de tratamento. A LLC tem sido relacionada a um desequilíbrio entre a proliferação celular das células sanguíneas e sua capacidade de sofrer apoptose. O desequilíbrio entre moléculas anti-apoptóticas e pró-apoptóticas parece ser um dos mecanismos de resistência à apoptose em LLC; sendo assim, é um dos fatores-chave que define a longevidade dos linfócitos B. O presente estudo teve como objetivo avaliar o mecanismo apoptótico de células mononucleares obtidas do sangue periférico (PBMCs) de pacientes com LLC pela técnica de **Western Blot**, comparando indivíduos de risco baixo, moderado e grave a indivíduos do grupo controle. Foi analisada a expressão de proteínas que estão comumente envolvidas com o aumento da sobrevivência de leucócitos, entre elas as MAPKs (proteínas cinases ativadas por mitógenos) P-p38 e P-ERK, bem como as proteínas envolvidas na via mitocondrial de proteção à morte celular Mcl1 (**long** e **short**) e Bcl-xL no grupo controle (n = 14) e pacientes com LLC (n = 21). O extrato proteico total das amostras foi submetido à técnica de **Western Blot** com incubação das membranas com anticorpos específicos para cada proteína estudada. Os filmes autorradiográficos foram escaneados e, em seguida, foram analisados por densitometria pelo programa ImageJ. Entre os pacientes avaliados, sete foram classificados como baixo risco (RAI 0/I), 12 como risco moderado (RAI II) e dois pacientes como risco grave (RAI IV). Diferenças significativas foram observadas para as proteínas P-p38 (medianas: 0,0195 e 0,856; p = 0,015), Mcl-1 **long** (medianas: 0,266 e 0,053; p < 0,01) e Mcl-1 **short** (médias: 0,798 ± 0,601 e 0,337 ± 0,443, p < 0,01), quando comparados pacientes e controles, respectivamente. Por outro lado, nenhuma diferença foi observada para as proteínas P-ERK e Bcl-xL. Quando comparados em relação à gravidade da doença, nenhuma diferença significativa foi observada para quantificação das proteínas. Os dados obtidos neste trabalho mostram um desequilíbrio entre proteínas das vias de apoptose, com um direcionamento para o aumento da sobrevivência celular nos PBMCs de pacientes com LLC. Isto pôde ser evidenciado pelo aumento da expressão da proteína Mcl-1 (conhecida por aumentar a sobrevivência de leucócitos) e diminuição dos níveis de fosforilação da proteína p38 (associada à apoptose de leucócitos) nos pacientes com LLC. Estes dados corroboram dados prévios sobre alterações no mecanismo apoptótico que favorecem a sobrevivência dos linfócitos B na LLC. **Financiamento:** CNPq, FAPEMIG, PRPq-UFMG.

497. TRICOLEUCEMIA COM IMUNOFENÓTIPO ATÍPICO – RELATO DE CASO

Sousa RD, Almeida NDF, Farias DLC, Alves LC, Lopes BC, Tavares RS
Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: A tricoleucemia (TL) é uma rara doença linfoproliferativa indolente de linfócitos B, responsável por 2% das leucemias linfoides presentes em adultos, mais frequentemente do sexo masculino (proporção 5:1). Caracteriza-se clinicamente por esplenomegalia, pancitopenia e infecções. O diagnóstico quase sempre requer uma biópsia de medula óssea (MO), imuno-histoquímica, mielograma e imunofenotipagem. A reticulina apresenta-se, via de regra, aumentada, dificultando a obtenção da amostra de aspirado da MO. O perfil imunofenotípico das células patológicas demonstra expressão de imunoglobulinas e marcadores de células B (CD19, CD20), além de forte positividade para CD103, CD11c e CD25. Geralmente, não há expressão de CD5, CD10 e CD23. O tratamento padrão compreende o uso de análogos de purina. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente portador de TL com marcadores para linfócitos B positivos. **Metodologia:** Foram utilizados para esse estudo o acompanhamento hospitalar do paciente, a revisão do prontuário e a pesquisa bibliográfica nas bases de dados MEDLINE, LILACS, SciELO e PubMed. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 61 anos, com fraqueza em membros superiores, febre, pancitopenia, hepatomegalia (a 4 cm do rebordo costal direito) e esplenomegalia (a 12 cm do rebordo costal esquerdo). Não foi possível obter MO por meio de punção (“dry tap”). O anatomopatológico de MO mostrou medula hiperplásica para idade, exibindo infiltração difusa por células de citoplasma amplo, claro e núcleo fendido, além de moderada fibrose reticulínica e citoplasma proeminente simulando pelos em sua superfície. Na análise imuno-histoquímica, observou-se positividade para CD20 e DBA44, compatível com TL. Ademais, encontra-se nesse caso um fenômeno atípico de positividade para CD5 e CD23. O paciente evoluiu com infecção anal, abscesso no braço, astenia, disúria, hiporexia e febre. Após três

meses do diagnóstico, já solucionado o quadro infeccioso, iniciou o tratamento com cladribina, apresentando neutropenia febril e náuseas. Evoluindo com melhora clínica e laboratorial, com desaparecimento da esplenomegalia em aproximadamente dois meses e remissão hematológica após três meses. **Discussão:** A esplenomegalia maciça é um achado comum em pacientes com TL, assim como o hipersplenismo. As complicações hematológicas incluem pancitopenia. Hepatomegalia pode estar presente, mas, geralmente, não é significativa. Apesar do caso descrito ser clinicamente clássico para TL, apresenta características imuno-histoquímicas particulares, tais como a positividade concomitante para CD5 e CD23. Recente artigo de Shao *et al* (Leukemia Research 37, 401-9, 2013), avaliando 216 casos de TL, detectou positividade aberrante para CD5 em 2% dos casos, para CD23 em 21% e nenhum caso com positividade concomitante para ambos, como o caso aqui descrito. **Conclusão:** Apesar da TL ser um evento raro, deve ser considerada no diagnóstico diferencial de outras alterações linfoproliferativas. O atraso em seu diagnóstico pode levar a sérias complicações infecciosas e culminar com a morte do paciente. Ainda que o imunofenótipo seja atípico, a TL deve ser considerada em pacientes com quadro clínico e achados laboratoriais característicos da doença.

498. DIAGNÓSTICO CONCOMITANTE DE POLICITEMIA VERA E LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA – RELATO DE CASO

Madeira PNM, Almeida MNCS, Barros MPB, Oliveira HM, Muzzi GC, Costa AL, Lodi FM

Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG, Brasil

M.J.S.B., 75 anos, sexo feminino, apresentando eritromelalgia há dois anos, com piora nos últimos dois meses e perda de oito quilos no último ano. Hipertensa, portadora de hipotireoidismo e artrite reumatoide há 30 anos, tratamento com anlodipina, tiroxina e hidroxicloquina. Ao exame físico, evidenciavam-se deformidades avançadas das mãos em consequência de artrite reumatoide, com eritrocianose de extremidades digitais. Em outubro de 2013, apresentou hemograma com poliglobulia, hematócrito: 60%. Realizadas duas sangrias e iniciada propedêutica. Exames de dezembro de 2013: HGB: 18.4, HTC: 57.4%, HM: 8.4, VCM: 68, GL: 6.220, SEG: 1.368, LINF: 4.230, PLAQ: 512.000, LDH: 727. Foram realizadas novamente duas sangrias, com melhora parcial da eritromelalgia. Em janeiro de 2014, mielograma com hiperplasia, 54,4% de linfócitos, compatível com doença linfoproliferativa crônica. Imunofenotipagem com predomínio de linfócitos maduros, com positividade para os marcadores CD19/CD5, CD22 e CD23, compatível com leucemia linfocítica crônica. Em fevereiro de 2014, apresentava hemograma: HGB: 15.6, HTC: 46.5%, HM: 6.8, VCM: 68.4, GL: 5.890, SEG: 942, LINF: 4.594, PLAQ: 648.000. Piora acentuada da eritromelalgia. Encaminhada ao serviço de Hematologia. Maio de 2014, primeira consulta com Hematologia, quadro de dor intensa com eritrocianose de extremidades digitais (3+/4+). Realizadas duas sangrias e iniciado AAS 100mg, com melhora imediata dos sintomas. Solicitada presença da mutação V617F no gene JAK2, com resultado positivo. Junho de 2014: Hemograma: HGB: 12,3, HTC: 38.6%, HM: 5,64, VCM: 68,4, PLAQ: 1.547.000. Iniciada Hidroxiureia. **Conclusão:** Os exames evidenciaram a presença de duas hemopatias clonais concomitantes: policitemia vera e leucemia linfocítica crônica (estágio precoce). Hemograma após início de tratamento: HGB: 12,2, HTC: 37.8%, HMC: 5,40, GL: 6.000, SEG: 840, LINF: 5.100, PLAQ: 858.000.

499. SÉZARY SYNDROME – CASE REPORT

Araujo RC^a, Silva AP^b, Pires CWBC^c, Brandão RA^d, Oliveira MS^e, Belo J^f, Leite LAC^f

^a Centro Universitário Maurício de Nassau, Recife, PE, Brasil

^b Unidade de Laboratório (ULAB), Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^c Departamento de Hematologia, Centro de Ciências de Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^d Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), Recife, PE, Brasil

^e Departamento de Dermatologia, Centro de Ciências de Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^f Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

Sézary syndrome is a very rare kind of T-cell lymphoma that compromises the skin and other tissues, and corresponds to a 3% of all cutaneous

lymphomas. Sézary syndrome is characterized by a triad of clinical manifestations, such as erythroderma with pruritus, lymphadenopathy, and atypical lymphocytes (Sézary cells). This syndrome should be differentiated from that of eczematous origin, psoriasis, and pharmacodermia. A 46-year-old male patient was admitted to the Dermatology Service of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Pernambuco after a gallstone surgery performed in another clinical service. He complained of small skin lesions with pruritus. The patient developed exfoliative erythrodermia, palmoplantar hyperkeratosis, pigmentation changes, skin peeling with small ulcerated areas on the upper limbs and abdomen, alopecia, and lagophthalmia. The blood count showed $23.7 \times 10^9/L$ with a large number of lymphocytes with convoluted nuclei ($2.56 \times 10^9/L$ Sézary cells). Histopathology examination also showed Sézary cells. After the diagnosis, the treatment was performed with partial response and clinical follow-up. However, this patient maintains an increased risk of developing a malignant neoplasia. Sézary syndrome remains with poor prognosis and presents a short survival. Further studies to enable understanding of the pathophysiology and consequently lead to the development of more effective treatments for patients with Sézary syndrome are needed. **Keywords:** T-cell lymphoma, erythrodermia; Sézary syndrome.

500. ASSOCIAÇÃO ENTRE TROMBOCITEMIA ESSENCIAL E DOENÇA LINFOPROLIFERATIVA CRÔNICA B – RELATO DE CASO E REVISÃO DA LITERATURA

Luccas PVL, Silva SS, Rossi SB, Martins MP, Borducchi DMM

Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

Introdução: A trombocitemia essencial (TE) é uma doença clonal de células progenitoras hematopoéticas que afeta as três séries mieloides (eritrocítica, granulocítica e megacariocítica), mas com expressão fenotípica caracterizada por proliferação megacariocítica sustentada associada à trombocitose. O grupo das doenças linfoproliferativas crônicas de células B tem como principais representantes os linfomas não Hodgkin e a leucemia linfocítica crônica. A prevalência de TE é de 1,03 a 1,5 em 100.000 na população mundial, sendo uma das doenças mieloproliferativas crônicas mais comuns. A associação entre TE e doenças linfoproliferativas é rara – existem poucos casos descritos na literatura. Relataremos um caso de TE com evolução para doença linfoproliferativa de células B após seis anos de tratamento. **Caso clínico:** Paciente masculino, branco, na oitava década de vida, apresentava como antecedentes pessoais ex-tabagismo de alta carga tabágica e insuficiência arterial periférica crônica por trombose arterial parcial em membro inferior esquerdo. Foi diagnosticado, em 2008, com TE classificada como alto risco por idade, com mutação JAK-2. O hemograma evidenciava Hb e Ht de 14,3 g/dL e 43,1%, respectivamente, contagem de leucócitos de 6.000 céls/mm^3 com diferencial normal e plaquetas de $613.000 \text{ céls/mm}^3$. Ao exame físico, não apresentava outras alterações, exceto pulsos diminuídos em membros inferiores esquerdos (MIE). Iniciou tratamento com hidroxíureia, na dose que variou de 7 a 9 g/semana, até que foi suspensa em 2012 por úlcera maleolar esquerda de difícil tratamento. Desde então, manteve-se em seguimento no serviço, em uso de ácido acetilsalicílico, até que, em junho de 2014, apresentou queixa de astenia, com emagrecimento de 6 kg em dois meses, e leucocitose com predomínio de linfócitos, 21.060 céls/mm^3 , em hemograma de rotina. Na investigação do quadro, a tomografia de tórax evidenciou múltiplos nódulos axilares medindo até 2,3 cm. Realizada imunofenotipagem de sangue periférico positiva para CD20, CD19, CD79b, FMC7, CD22 e KAPPA, e negativa para CD11c, CD103, CD5, CD10, CD23, CD43, CD200, CD123, IgD e IgM; ZAP70 20%. Biópsia de medula óssea com infiltração linfóide atípica, ZAP70 20%, positiva para BCL-2, CD20 e CD5 e negativa para BCL-6, ciclina-D1, CD3 Ecd23, compatível com o diagnóstico de leucemia linfocítica crônica. **Discussão:** Na literatura, existem poucos relatos de sincronismo entre neoplasias de linhagens mieloides e linfóides. A associação de TE e doença linfoproliferativa crônica B mostra-se ainda mais rara. Na maioria dos casos, a doença linfoproliferativa apresenta diagnóstico posterior ao da TE, assim como no presente relato. A mutação JAK2 617F está presente em 50% dos casos de TE, e ZAP-70, em cerca de 30% dos casos de LLC, e são preditores de mau prognóstico. Atualmente, não é clara a associação entre as alterações presentes nas duas linhagens; o mais aceito é que trata-se de mutações aleatórias, porém, não é um consenso, já que são raros os casos. A ação da hidroxíureia na mutação da linhagem linfóide chegou a ser investigada; no entanto, até o presente momento, não há correlação firmada entre o uso desta medicação e o desenvolvimento da doença linfoproliferativa.

501. LESÃO ULCERADA INFILTRATIVA EM LÁBIO INFERIOR COMO MANIFESTAÇÃO CUTÂNEA ATÍPICA DE LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA

Albuquerque LM, Silva FAC, Carvalho LEM, Leitão JPV, Dantas ELR, Araújo BSGSP, Barroso KSN, Albuquerque RR, Kaufmann J, Duarte FB

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

Leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma das malignidades linfóides mais prevalentes. Incidência da doença mostra diferenças geográficas significativas, sendo bem mais comum em países ocidentais. Fatores genéticos e ambientais aparentam ter um papel na distribuição geográfica, e sua incidência é maior em caucasianos e menor em asiáticos. A incidência da LLC aumenta com a idade, com idade média do diagnóstico de 70 anos. Seu diagnóstico se baseia na análise do esfregaço de sangue periférico e citometria de fluxo. Na apresentação da doença, os pacientes geralmente são assintomáticos, com diagnóstico incidental em consequência de linfocitose no hemograma. Infiltração por células neoplásicas pode ocorrer em qualquer órgão no diagnóstico, inclusive na pele; esta, porém, é envolvida em menos de 5% dos casos, podendo cursar com máculas, pápulas, placas, nódulos e úlceras. O acometimento da pele não afeta significativamente o prognóstico, a não ser que represente um foco de transformação Richter. A terapia inicial da LLC evoluiu ao longo das últimas décadas, tendo à disposição agentes alquilantes, análogos da purina e anticorpos monoclonais anti-CD20. **Objetivo:** Relatar um caso de LLC e sua apresentação atípica com neoplasia infiltrativa em lábio inferior. **Materiais e métodos:** Feita revisão de prontuário e descrição do caso de apresentação atípica da LLC. Paciente de 78 anos, sexo masculino, agricultor, procurou atendimento em consulta na Hematologia, referindo astenia importante e lesões aftosas em mucosa oral, de curso transitório. Apresentava, em lábio inferior à esquerda, lesão infiltrada com ulceração e corstosa de coloração amarelada. Detectaram-se linfonodomegalias de pequenas dimensões em cadeias cervicais e epitrocleares. Foi solicitado hemograma completo, que evidenciou leucocitose/linfocitose ($175.200 \text{ leucócitos}$, com $166.440 \text{ linfócitos}$) e prosseguiu-se com a investigação com imunofenotipagem por citometria de fluxo de sangue periférico, que foi compatível com leucemia linfocítica crônica de células B (CD23+, CD20+ de baixa intensidade, CD22+ de baixa intensidade, FMC7-). Por haver sinais de infecção secundária, paciente usou ciprofloxacina (500 mg, duas vezes ao dia) por 15 dias e retornou para reavaliação, quando foi realizada a biópsia da lesão, e a análise histopatológica demonstrou derme difusamente ocupada por proliferação de células linfocitárias atípicas, pequenas, de núcleos hipercondensados e homogêneos, sem nucléolos evidentes e com citoplasma escasso, sugerindo proliferação neoplásica. Painel de imunohistoquímica da lesão (CD5+, CD20+, CD23+), em conjunto com os achados morfológicos, foi consistente com infiltração cutânea por proliferação neoplásica linfocítica de pequenas células. Foi iniciado tratamento com rituximabe e clorambucil e, após o primeiro ciclo de quimioterapia, houve regressão completa da úlcera. **Conclusão:** Relatamos um caso de lesão ulcerada infiltrativa neoplásica em lábio inferior como apresentação atípica de LLC, tendo apresentado boa resposta com clorambucil e rituximabe.

502. MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM – RELATO DE CASO E REVISÃO DE LITERATURA

Ribeiro ML^a, Amorim KD^a, Duarte CMA^a, Gomes BAB^a, Dantas EA^a, Lima GGM^a, Filgueiras PL^a, Sousa GB^a, Lima ARM^b, Botelho LFB^a

^a Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil

^b Instituto Cândida Vargas, João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: Macroglobulinemia de Waldenström (MW) é uma desordem proliferativa de linfócitos B, caracterizada pela infiltração de células linfoplasmocíticas na medula óssea (MO), aumento da produção monoclonal de imunoglobulinas M (IgM) e imunofenótipo típico (IgM de superfície positivo, CD5 positivo/negativo, CD10 negativo, CD19, CD20, CD22, CD25, CD27 e FMC7 positivos, CD23, CD103 e CD138 negativos). É doença rara, com predomínio no sexo masculino e na faixa etária dos 50-70 anos. A apresentação clínica pode decorrer tanto da infiltração das células B, com anemia e organomegalias, como da hiperconcentração de IgM, gerando hiperviscosidade. Seu tratamento está reservado à presença de sintomas e complicações. **Objetivos:** Relatar caso raro e realizar revisão de literatura. **Relato de caso:** Paciente, 81 anos, feminino, apresentou quadro de cefaleias, tonturas e turvação visual há qua-

tro meses, associado à saciedade precoce pós-prandial. Negava perda ponderal, febre e uso de medicações. Ao exame físico, apresentava esplenomegalia de cerca de 7 cm abaixo do rebordo costal esquerdo. Em investigação laboratorial, evidenciou-se aumento das proteínas séricas totais (PT), às custas do componente das globulinas - PT: 11.190 g/dL (8.590 g/dL de globulina), fato que deu início à investigação diagnóstica para gamopatias monoclonais. Foram solicitados exames adicionais, que evidenciaram: esplenomegalia na ultrassonografia de abdome total e pico monoclonal da região beta na eletroforese de proteínas séricas. A dosagem de imunoglobulinas revelou IgM igual a 11.040 g/dL. O mielograma mostrou hemodiluição importante, porém, evidenciou MO com aumento da porcentagem de linfócitos maduros. A beta-2 microglobulina foi igual a 4.269 ng/mL. A imunofenotipagem da medula óssea confirmou população de linfócitos B clonais, associados a plasmócitos, com restrição de cadeia leve lambda, sugerindo MW. Estabelecido o diagnóstico e, mediante presença de sintomatologia clínica, iniciou-se tratamento com R-CVP (rituximabe + ciclofosfamida + vincristina + prednisona), com doses ajustadas para a idade. No momento, paciente no segundo ciclo quimioterápico, evoluindo com melhora progressiva dos sintomas neurológicos e dos parâmetros laboratoriais. **Discussão e conclusão:** É importante o relato do caso pela raridade do mesmo, pois a MW corresponde a apenas 2% das doenças malignas hematológicas. A infiltração da MO por linfócitos B com diferenciação em células linfoplasmocíticas e a hipersecreção de IgM sugerem MW, porém, a imunofenotipagem é um exame importante para confirmação diagnóstica. Como demonstrado no caso apresentado, sinais e sintomas motivaram o início do tratamento. As drogas de primeira escolha para o tratamento são os agentes alquilantes (clorambucil, ciclofosfamida). Em casos refratários, são utilizados análogos purínicos (fludarabina). Estudos têm evidenciado melhor resposta com o uso do rituximabe, anticorpo monoclonal anti-CD20, em associação quimioterápica ou como monoterapia. A plasmáfereze, com redução dos níveis circulantes de IgM, e a quimioterapia, com inibição do crescimento tumoral, são indicados na MW sintomática. As queixas de cefaleias, tonturas e turvação visual apresentadas pela paciente sugeriam hiperviscosidade, e o tratamento requeria realização de plasmáfereze; porém, não dispomos deste procedimento no serviço público do estado, o que motivou início imediato da quimioterapia, com bons resultados.

503. INFILTRAÇÃO CUTÂNEA NA LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA: UMA APRESENTAÇÃO CLÍNICA VARIÁVEL

Prata PH, Koury LCA, Bellintani LM, Lisboa VCS, Maeda BS, Braga FO, Lopes ER, Pontes PP, Simões BP

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: No contexto atual, a leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma doença incurável com os tratamentos imunoterápicos habituais, que tem no transplante de medula óssea (TMO) a única terapia com perspectiva curativa. Entretanto, dada a alta mediana de idade dos pacientes acometidos, nem sempre esta é uma modalidade de tratamento possível. Portanto, é preciso saber como lidar com as progressivas complicações desta doença, que frequentemente tem manifestações atípicas. Apesar de muito menos frequentes do que nas leucemias de células T, lesões cutâneas acometem até 25% dos portadores de LLC, e são pleomórficas e de etiologia variada. Neoplasias secundárias, vasculites, púrpura, infiltração por células leucêmicas e infecções são alguns dos mecanismos etiopatogênicos responsáveis. **Relato de caso:** F.S., sexo feminino, 82 anos de idade, *Karnofsky performance status* 50, é acompanhada em nosso serviço há cinco anos por conta de diagnóstico de LLC Binet C, Rai IV. Por ter apresentado, há um ano, toxicidade hematológica grau IV ao clorambucil, estava sem tratamento específico para a doença quando compareceu à consulta de retorno, apresentando úlcera crônica de cinco meses de evolução em membro inferior esquerdo (MIE). Inicialmente, a úlcera foi atribuída a causas mais frequentes, tais como infecção ou estase venosa, sendo realizados tratamento local e diversos cursos de antimicrobianos, pois a paciente, em alguns momentos, também apresentava febre e secreção purulenta no local. Por conta da persistência e progressão da lesão cutânea, foi realizada biópsia, que revelou ulceração associada a dermatite nodular superficial e profunda, com área de necrose coagulativa e denso infiltrado linfo-histiocítico perivascular, que se estende ao subcutâneo. A imuno-histoquímica para o infiltrado linfóide revelou positividade para os marcadores CD20, CD5 e

ZAP-70 e negatividade para CD3 e CD23, revelando o diagnóstico de *leukemia cutis* (LC). Atualmente, ela recebe cuidados clínicos na ferida, visto que um tratamento quimioterápico não se aplica. **Discussão e conclusão:** A LLC é uma doença insidiosa, que afeta principalmente indivíduos idosos, e pode associar limitações à qualidade de vida. Os portadores de LLC apresentam, com frequência, alterações cutâneas, cujas causas mais comuns são infecções e sangramentos. Este caso em particular exibiu uma apresentação dermatológica atípica, a úlcera cutânea. Os diagnósticos diferenciais do quadro cutâneo descrito incluem neoplasias secundárias e infecções, que podem estar associadas a insuficiência vascular periférica e estase venosa. De uma forma geral, a LC se apresenta como pápulas agrupadas, solitárias ou mesmo generalizadas, nódulos ou tumorações. A implicação prognóstica de LC por infiltração por pequenas células é incerta, mas aparentemente não afeta a sobrevida global do paciente. Deste modo, o diagnóstico anatomopatológico reforça a impressão de pleomorfismo das lesões dermatológicas causadas pela LLC.

504. LEUCEMIA PROLIFOCÍTICA T – RELATO DE CASO

Souza KJ^a, Landgraf MM^a, Oliveira MFS^a, Jr ES^a, Landgraf LAP^a, Pereira LP^b, Bressa RC^{a,b}, Bressa JAN^{a,b}

^a Hospital Regional de Presidente Prudente, Presidente Prudente, SP, Brasil

^b Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil

A leucemia prolinfocítica T (LPL-T) é uma neoplasia de linfócitos T maduros pós-tímicos, rara e agressiva, na qual os pacientes apresentam aumento exponencial da contagem leucocitária associado à esplenomegalia, linfadenopatia, hepatomegalia e lesões de pele. É mais comum em homens idosos e está associada a alterações genéticas envolvendo tipicamente os cromossomos 14, 8 e 11. Apresentamos um caso de LPL-T de apresentação cutânea, de difícil diagnóstico e cariótipo complexo. **Material e métodos:** Levantamento de prontuário, descrição e discussão de relato de caso com revisão bibliográfica em banco de dados (PubMed). **Resultados:** Paciente do sexo masculino, 51 anos, agricultor, dá entrada no pronto atendimento referindo febre de 40°C intermitente há um mês, associada a dor em membros inferiores, mãos, ombros e articulação. Relata também lesões por todo o corpo há dois anos, com piora há um mês, quando utilizou o pesticida Roundup® (Monsanto). Ao exame, paciente em estado geral regular, ativo, lúcido e orientado no tempo e espaço, corado, acianótico, anictérico e afebril. Frequência cardíaca 94bpm, respiratória 24ipm, saturação de O₂ 97%, temperatura 37,3°C e pressão arterial sistêmica 130x70mmHg. Abdomen normotenso, doloroso à palpação em hipocôndrio direito, ruídos hidroaéreos presentes, desconpressão brusca dolorosa negativa, Giordano negativo, sem visceromegalias. Linfonodos em região inguinal à direita e cervical posterior, dolorosos, sendo o maior de 3 cm, fibroelásticos e móveis. Na dermatoscopia, eritema e descamação difusa, com queratodermia em regiões plantar e palmar, tornozelos e fossas cubitais. Presença de edema palpebral e peniano. Nos antecedentes pessoais: em investigação há dois anos com a Dermatologia, sem diagnóstico fechado. Realizadas duas biópsias de pele, que mostraram dermatite perivascular e intersticial superficial. Biópsia de linfonodo: linfadenite crônica com expressão para células dendríticas do tipo dermatopática. Exames laboratoriais: hemoglobina (Hb) 11,1 g/dL, plaquetas 358K/μL, leucócitos 66,54K/μL (67% linfócitos), proteína C reativa 192, TGO 29U/L, fosfatase alcalina 56U/L, Gama-GT 60U/L, albumina 3,2 g/dL, TGP 32U/L e sorologia para hepatite B, C, HIV e HTLV não reagente. Realizada nova biópsia de pele, que observou dermatite perivascular psoriasiforme com espongióse e excitose de linfomononucleares. Realizado painel proliferativo de sangue periférico, que concluiu leucemia prolinfocítica T e, em seguida, cariótipo (44-45, XY, del(1)(q32), add(2)(q37), add(5)(p15), -11, add(11)(p15), -12, add(14)(q32), +mar1, +mar2[cp14]/46XY). **Conclusão:** A LPL-T está frequentemente relacionada ao HTLV; porém, neste caso, essa associação não foi encontrada. Concordante com Das, a imuno-histoquímica apresentou positividade para CD4, CD3 (sup.), CD7, TCL1 (citop.), CD2, CD5, CD45 e TCR alfa/beta, e o cariótipo complexo apresentou as principais aberrâncias genéticas. Apesar de a apresentação cutânea estar presente em um terço dos casos, as biópsias evidenciaram alterações inespecíficas – fato que acontece em cerca de 45% dos casos –, que podem apresentar a forma de processos reativos, dermatite descamativa, vasculites e icctose, o que retardou ainda mais o diagnóstico. O paciente foi tratado com ciclofosfamida e fludarabina e, até o momento, obteve resposta parcial.

505. LINFOMA/LEUCEMIA DE CÉLULAS T DO ADULTO (L/LTA) – RELATO DE CASO E REVISÃO DA LITERATURA

Casati MFM, Cirlinas AM, Oliveira VH, Matsushita CM, Borducchi JHM, Borducchi DMM

Departamento de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

Introdução: Em todo o mundo, de 10 a 20 milhões de pessoas estão infectadas pelo HTLV-1, das quais 1 a 5% desenvolvem doença relacionada a este vírus, mais frequentemente linfoma/leucemia de células T do adulto (L/LTA) e mielopatia associada ao HTLV-1. No Brasil, a soroprevalência é alta, variando de 0,47 a 1,8%, dependendo da região. O diagnóstico do L/LTA baseia-se em vários aspectos: quadro clínico e laboratorial, morfologia atípica de linfócitos, imunofenotipagem (CD4+, CD8-, CD25+), achados histopatológicos de linfoma não Hodgkin, detecção de anticorpo anti-HTLV-1 e integração monoclonal do HTLV-1 proviral no DNA de células neoplásicas. Esta doença ocorre em adultos entre 20 e 80 anos, com média de 58 anos. O L/LTA está classificado em quatro subtipos: *smoldering*, crônico, linfoma e agudo. O tratamento é baseado em poliquimioterapia para as formas aguda e linfoma; PUVA para acometimento de pele, e estuda-se o uso de antirretrovirais para controle da doença. **Relato de caso:** Paciente C.F.A., 69 anos, gênero feminino, natural da Bahia, com antecedente pessoal de hipotireoidismo, hipertensão arterial sistêmica, hipercolesterolemia, epilepsia e neurocisticercose. Deu entrada no serviço de Cirurgia de Cabeça e Pescoço apresentando múltiplas úlceras orais, sem melhora com uso de antibióticos, e massa volumosa em região submandibular esquerda. Submetida à biópsia da lesão, que revelou linfoma/leucemia de células T, sendo encaminhada ao serviço de Hematologia do Hospital Estadual Mário Covas. Paciente com critérios bem definidos para entidade com subtipo linfomatoso, incluindo manifestação cutânea na forma eritrodérmica. Iniciado tratamento em julho de 2013 com esquema CHOP, com regressão completa do comprometimento linfonodal, porém, com permanência das lesões em pele após seis ciclos da quimioterapia. Paciente segue em acompanhamento da equipe de Ortopedia por conta de rarefação óssea, com a Infectologia buscando liberação de AZT (Ministério da Saúde autoriza essa medicação apenas para casos de HIV-AIDS), e também com a Dermatologia, onde está sendo submetida à PUVA, com melhora do prurido, mas com manutenção da eritrodermia. **Discussão:** Pacientes com L/LTA nas formas *smoldering* e crônica podem evoluir para variante aguda. Isso ocorre em 25% dos casos – usualmente, a longo prazo. No entanto, a manutenção do comprometimento cutâneo isolado após tratamento da variante linfomatoso, como no caso descrito, raramente ocorre, e constitui um desafio no manejo destes pacientes.

506. O INIBIDOR SELETIVO DE AURORA-QUINASES AMG 900 REDUZ A PROLIFERAÇÃO CELULAR EM LINHAGEM DE LEUCEMIA LINFOIDE CRÔNICA

Souza FC^{a,b}, Sangiorgi B^c, Lima IMS^c, Pacheco DCS^d, Borges KS^c, Covas DT^a, Zago MA^{a,b}, Panepucci RA^{a,b}

^a Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^d Laboratório de Genética Humana e Médica, Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA, Brasil

As aurora-quinases (AURKs), representadas por auroras A, B e C, são serina-treonina quinases fundamentais na regulação da divisão celular, sendo as auroras A e B associadas à entrada na fase mitótica, formação dos microtúbulos do fuso e conclusão da citocinese. A superexpressão destas proteínas acarreta aneuploidia e instabilidade genômica, as quais têm grande relevância na patogênese de diversos tumores, assim como mau prognóstico dos pacientes. Entre as doenças hematológicas com registros de instabilidade cromossômica, a leucemia linfóide crônica (LLC) pode apresentar amplificação dos centrosomos dos linfócitos B, assim como alteração nos níveis de expressão das AURKs, acarretando aneuploidias. O fármaco AMG 900, um inibidor altamente seletivo de AURKs com ação no bloqueio da autofosforilação de AURKA e AURKB e da fosforilação da Serina 10 na Histona 3, um substrato de AURKB, está em fase clínica de avaliação em pacientes com estágio avançado de câncer, cujos tumores

são resistentes à terapia com fármacos de ação sobre microtúbulos do fuso mitótico. A depleção ou inativação de tais quinases acarretam o bloqueio do *checkpoint* mitótico, com posterior amplificação cromossômica na fase G1 do ciclo celular, sendo este, então, interrompido, e resultando, por fim, na morte celular. Estudos prévios evidenciaram a eficácia do inibidor de AURKs AMG 900 em reduzir a proliferação e induzir a morte celular em células derivadas de diversas linhagens tumorais, tais como cólon, próstata, fígado, pulmão, entre outros. Considerando que dados da literatura não apresentam, até o momento, resultados do tratamento de AMG 900 em linhagens de LLC, o presente trabalho buscou identificar a atividade deste composto em inibir a proliferação de células derivadas da linhagem celular EHEB (LLC). Para tanto, as células foram plaqueadas em uma placa de 96 poços, sendo tratadas com concentrações variando entre 0,5 a 50 nmol/L do fármaco AMG 900 por 24 horas, lavadas e cultivadas em meio de cultura sem o inibidor por 48 horas. As células foram, então, marcadas com corante nuclear Hoechst 33342 (Invitrogen) por 10 minutos, e as imagens foram adquiridas por meio de microscopia de fluorescência automatizada em um aparelho de High Content Screening (HCS), com objetiva de 10X, por meio da qual foram adquiridas nove imagens por poço da placa de cultura celular. A partir do software de análises de imagens MetaXpress 5.1, a quantidade total de núcleos em cada condição experimental foi obtida. Com uso do software Graphpad Prism 5.0, os resultados acerca da quantidade de células em cada condição experimental foram comparados à situação controle (sem tratamento). Tal análise revelou uma inibição significativa com 10nM de AMG 900 para esta linhagem celular. Além disso, concentrações mais elevadas foram capazes de reduzir a quantidade de células em até 95%. Como um todo, nossos resultados indicam uma possível aplicação terapêutica de inibidores de AURKs na LLC. Posteriormente, pretendemos avaliar os mecanismos moleculares envolvidos nos resultados observados, a exemplo de relações entre a inibição de AURKs e proteínas envolvidas no ciclo celular, apoptose e via NF- κ B. Tais achados poderão, além de contribuir com a literatura atual acerca do papel das AURKs em LLC, indicar alternativas eficazes no tratamento deste tipo de câncer.

507. LEUCEMIA LINFOIDE CRÔNICA: EXPERIÊNCIA DA FACULDADE DE MEDICINA DO ABC

Bragatto FB^a, Mauad VAQ^b, Santucci R^a, Casati MFM^b, Oliveira VH^b, Guiguer IC^b, Borducchi DMM^a

^a Disciplina de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

^b Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

Introdução: A leucemia linfóide crônica (LLC) é a leucemia mais comum na população adulta ocidental. Deve-se ao acúmulo de linfócitos B maduros no sangue, medula óssea, linfonodos ou outros tecidos linfáticos. Os fatores de risco incluem idade avançada e história pessoal ou familiar de outras doenças linfoproliferativas. Entre os sintomas comuns, observam-se linfadenomegalia, sintomas constitucionais e falência medular. No entanto, a maioria dos pacientes é assintomática ao diagnóstico, muitas vezes realizado em exames de rotina. Ao contrário da maioria das outras leucemias, a LLC não é necessariamente tratada no momento de seu diagnóstico, mas sim no início de sua fase sintomática. Essa estratégia se baseia principalmente em *trials* randomizados que demonstraram não haver diferença significativa no desfecho de pacientes tratados precocemente contra o grupo contrário. Contudo, novos trabalhos vêm apontando para a existência de subgrupos, diferenciados com base em características biológicas, clínicas e citogenéticas, que se beneficiariam de tratamento precoce. Assim, o tratamento da LLC baseia-se em seu estadiamento pelos sistemas Rai e Binet, além da análise de marcadores citogenéticos e progressão clínica. Por estes motivos, estudos epidemiológicos são de grande importância, na medida em que expõem quais marcadores, terapias e demais estratégias têm maior impacto no benefício dos pacientes. **Objetivos:** Apresentação da experiência do serviço da FMABC, no Hospital Estadual Mário Covas, no período de agosto de 2009 a janeiro de 2014. **Metodologia:** Trata-se de um estudo descritivo, retrospectivo, no qual foram revisados prontuários de 120 pacientes por meio do sistema de gerenciamento de pacientes da unidade em questão. **Resultados:** A média de idade da população estudada foi de 71 anos, e a média de idade ao diagnóstico era de 66 anos e 3 meses. O fato de ter LLC não diminuiu a taxa de sobrevida da população estudada nos primeiros cinco anos em comparação com a média da população da mesma faixa etária; porém, após este período, a doença parece estar ligada a uma importante diminuição nesta taxa. **Conclusão:**

O presente estudo permitiu analisar detalhes sobre a população acometida pela LLC atendida pelo Hospital Estadual Mário Covas, dando uma melhor visão de como a doença atinge estes indivíduos ao longo do tempo e como o tratamento realizado afeta a sobrevida e, principalmente, a qualidade de vida dos mesmos. Revisões como esta ajudam os profissionais a ter um *feedback* de seus esforços e a planejar ações futuras visando ao melhor benefício de seus pacientes.

508. IMPACTO DAS ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS EM LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA: DADOS DE UM SERVIÇO

Marques LA^a, Gabe C^a, Buccheri V^b, Linardi C^a, Bendit I^a, Aiko C^a, Ferreira PB^a, Gualandro SFM^a, Velloso EDRP^a

^a Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma neoplasia linfoproliferativa crônica de células B caracterizada por linfocitose, podendo ser assintomática ou acompanhada de linfonodomegalias, organomegalias e citopenias. A doença é mais incidente em idosos, em geral diagnosticada em estágios clínicos iniciais. As alterações citogenéticas (CTG) são detectadas em cerca de 30% dos casos pelo cariótipo convencional e, em mais de 80% dos casos, pelo FISH, e têm papel fundamental no prognóstico dessa neoplasia. **Objetivo:** Verificar as alterações CTG mais prevalentes nos pacientes com LLC no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo/HCFMUSP e correlacioná-las com dados clínicos, em particular nos casos com trissomia 12. **Métodos:** Estudo retrospectivo realizado após levantamento de dados de prontuários médicos. Foram avaliados aspectos clínicos (idade, sexo, estado clínico (EC) de Binet, sobrevida global (SG) a partir do diagnóstico e da análise CTG, sobrevida livre de tratamento (SLT) a partir do diagnóstico e da análise CTG, taxa de mortalidade) e laboratoriais (linfocitose, morfologia/imunofenotipagem típica ou atípica, DHL). Os pacientes foram separados em subgrupos conforme resultado da CTG. A CTG foi descrita de acordo com ISCN 2013, sendo que, em três casos, a clonalidade para trissomia 12 foi confirmada por FISH. O estudo das associações das variáveis com CTG normal ou trissomia 12 foi feito pelo teste de Fisher/Quadrado. O método de Kaplan-Meier foi utilizado para estimar SG e SLT, e o teste de *log-rank* foi usado para comparação estatística. Considerou-se estatisticamente significante um $p < 0,05$. **Resultados:** Foram avaliados 83 pacientes: 54% possuíam cariótipo normal, 26% trissomia 12, e 20% apresentavam outras alterações CTG (del 11, -X, del 6, inv 13, del 17, t(14;18), -6, i17, t(3;11), t(13;14), +13, -17, del 8, t(11;11), -Y). Quando analisado o subgrupo CTG normal *versus* trissomia 12, não foi encontrada diferença estatisticamente significante quanto à idade de apresentação, linfocitose, dosagem sérica de DHL, morfologia/imunofenotipagem e taxa de mortalidade. Entre os 67 pacientes que apresentaram CTG normal e trissomia 12, a mediana da SG a partir do diagnóstico foi de 45 meses e, a partir da análise CTG, de 23 meses. A SG a partir do diagnóstico entre os pacientes com CTG normal e trissomia 12 foi de 100% e 89,7%, respectivamente, em um período de 48 meses ($p = 0,16$); a SG partindo da coleta da análise CTG foi 97,2% e 81,9% ($p = 0,15$), respectivamente, para o mesmo período. A mediana da SLT a partir do diagnóstico foi de 28 meses. A SLT a partir do diagnóstico entre os pacientes com CTG normal e trissomia 12 foi 60,5% e 52,2% em 48 meses, respectivamente ($p = 0,26$). A partir da coleta da análise CTG, a SLT foi 52% e 34,4% ($p = 0,15$), respectivamente. **Conclusão:** A trissomia 12, quando comparada à CTG normal nos pacientes com LLC, apresenta aspectos similares quanto à apresentação e prognóstico, achado semelhante ao relatado previamente na literatura. O entendimento da relação entre aspectos clínicos e alterações CTG é fundamental para compreensão sobre o comportamento da LLC e fornece informações importantes sobre evolução e prognóstico da doença.

509. ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DE DIDO E AURORA-QUINASES EM AMOSTRAS DE PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOIDE CRÔNICA

Panepucci RA^{a,b}, Schiavinato JLD^c, Fráguas MS^d, Souza FC^{a,b}, Alonso CM^e, Covas DT^b, Zago MA^{a,b}

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^d Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^e Departamento de Imunologia e Oncologia, Centro Nacional de Biotecnologia (CNB-CSIC), Madri, Espanha

A garantia de viabilidade celular e estabilidade genômica são dependentes de distribuição uniforme de cromossomos a partir de um ciclo normal de replicação, sendo a segregação incorreta dos cromossomos frequentemente encontrada em células tumorais. Agente participante do ciclo celular, o gene *DIDO* codifica três isoformas proteicas distintas (*DIDO1*, *DIDO2* e *DIDO3*), cujos domínios estão associados, entre outros fatores, à ativação transcricional de promotores das caspases, com consequente indução de apoptose e possível ativação de um controle epigenético, cuja repressão transcricional ocorre quando determinada isoforma se liga à H3K4me3. Ainda, a inativação de *DIDO3* leva à amplificação dos centrossomos, acarretando instabilidade cromossômica e aneuploidia. As aurora-quinases (AURKs), por sua vez, estão associadas à entrada na fase mitótica, formação dos microtúbulos do fuso e conclusão da citocinese. Tendo em vista que a leucemia linfocítica crônica (LLC) é a mais comum entre pacientes adultos em países ocidentais e que, de maneira geral, as alterações cromossômicas estão associadas a um pior prognóstico, o presente trabalho objetivou avaliar a relação entre os níveis de *DIDO* e a presença de anomalias cromossômicas em amostras de LLC. Assim, amostras derivadas de 82 pacientes diagnosticados com doenças hematológicas distintas foram avaliadas neste estudo. Amostras-controladas foram derivadas da medula óssea (MO) ou de células mononucleares do sangue periférico de doadores saudáveis. Ainda, para a extração do RNA total, síntese de cDNA e amplificação por qPCR foram utilizados, respectivamente, TRIZOL, kit de transcrição de cDNA e SYBr Green Master Mix. A expressão relativa foi determinada pelo ΔCt , usando GAPDH para normalização. A análise estatística e gráficos foram realizados por meio do software GraphPad Prism 6. As amostras foram divididas em duas subpopulações, que diferiram quanto aos níveis transcricionais das variantes *DIDO*. Estas subpopulações podem ser selecionadas com base nos níveis de expressão observados em amostras-controladas de células mononucleares, derivadas da MO, sendo um subgrupo de amostras apresentando níveis superiores aos controles (cujos níveis de expressão se equipararam aos observados em amostras de LLC sem alterações cromossômicas), e outro subgrupo com níveis muito inferiores. Além disso, amostras com baixos níveis de expressão de *DIDO* tiveram contagens de glóbulos brancos e cromossomos totais significativamente maiores que as amostras com expressão elevada, indicando uma aparente associação entre baixos níveis de *DIDO* e a ocorrência de aneuploidias na LLC e, potencialmente, maior proliferação celular. Por fim, a avaliação dos níveis transcricionais das AURKs nas mesmas amostras de LLC revelou níveis destes transcritos inversamente relacionados aos de *DIDO*, indicando uma possível relação entre o controle transcricional de *DIDO* e das AURKs. Considerando que a presença de domínios proteicos em *DIDO3* possa estar associada a mecanismos de repressão transcricional (mediados pelo recrutamento de HDACs), é plausível que *DIDO3* possa participar da repressão das AURKs. Desta forma, níveis reduzidos de *DIDO3* poderiam resultar na expressão elevada das AURKs. Ensaios futuros visam, assim, a avaliar o papel exercido pelas variantes de *DIDO* sobre o controle transcricional das AURKs.

SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS

510. ANÁLISE CITOGENÉTICA NA INVESTIGAÇÃO DA SÍNDROME MIELODISPLÁSICA

Marques FK^a, Cueva SDL^b, Rezende MCR^b, Ângelo PC^b, Mateo EC^a, Ferreira ACS^a

^a Instituto Hermes Pardini, Setor de Pesquisa & Desenvolvimento, Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Instituto Hermes Pardini, Setor de Citogenética, Belo Horizonte, MG, Brasil

A síndrome mielodisplásica (SMD) representa um grupo heterogêneo de doença clonal da célula tronco hematopoiética, caracterizada por inefi-

ciência e displasias das células sanguíneas com tendência à evolução para leucemia mieloide aguda (LMA). Acomete principalmente idosos, mais comumente os homens; sua etiologia pode ser *de novo* ou secundária após tratamentos com quimioterapias ou imunossupressores. As alterações cromossômicas são detectadas em aproximadamente 47% dos pacientes, sendo que as mais frequentes envolvem os cromossomos 5, 7, 8, 11, 13, 17, 20, 21, X e Y. Estas alterações são variáveis prognósticas independentes, permitindo avaliar a SMD ao diagnóstico, acompanhar sua evolução e auxiliar na escolha terapêutica. Há vários sistemas para avaliar o prognóstico da SMD. O mais utilizado é o **Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R)**, que propôs um escore para separar os pacientes em grupos evolutivos baseados nas citopenias, porcentagem de blastos na medula óssea e o cariótipo. No tocante ao cariótipo, cinco categorias foram estabelecidas para prognóstico: muito bom, bom, intermediário, ruim e muito ruim e, a partir destes, com os outros parâmetros, são calculadas categorias de risco, sobrevida e de transformação para LMA. No presente estudo, foram levantados os resultados de cariótipo de medula óssea de 350 pacientes em investigação de SMD realizada no setor de Citogenética do Laboratório Hermes Pardini, no período entre julho de 2013 a abril de 2014. As alterações cromossômicas encontradas foram classificadas quanto ao valor prognóstico, considerando o IPSS-R. Dos 350 pacientes, 199 eram mulheres (56,9%) e 151 homens (43,1%). A média de idades dos pacientes foi 68 anos. Foram encontradas alterações cromossômicas em 79 pacientes (22,6%), envolvendo principalmente os cromossomos 5, 7, 8, 11, 12, 13, 17, 20, X e Y. As alterações cromossômicas isoladas mais frequentes foram a nulissomia do cromossomo Y em 14 casos (17,7%), del(5q) em oito casos (10,1%), trissomia do cromossomo 8 em sete casos (8,7%), e del(20q) em cinco casos (6,3%). Em 19 casos (24%), foram observados cariótipos complexos (três ou mais alterações) e, em 12 casos (15,2%), cariótipos com duas alterações. Entre os cariótipos alterados, 14 (17,7%) foram classificados como de muito bom prognóstico, 15 (19%) bom prognóstico, 25 (31,7%) prognóstico intermediário, oito (10,1%) prognóstico ruim e 17 (21,5%) de prognóstico muito ruim. Entre os pacientes com cariótipo alterado, dois desenvolveram SMD secundária à quimioterapia, e um após transplante de medula óssea. Os resultados deste trabalho corroboram a literatura, principalmente quando consideramos os tipos de alterações encontradas. No entanto, observamos uma porcentagem menor de alterações, que pode ser explicada pela escassez de dados clínicos. Em muitos casos, não tínhamos a informação sobre se o teste havia sido solicitado para diagnóstico inicial ou controle pós-tratamento, por exemplo. Este trabalho evidencia a importância da avaliação do cariótipo na investigação da SMD.

511. AVALIAÇÃO DA QUELAÇÃO DO FERRO NA SÍNDROME MIELODISPLÁSICA

Soares TB, Bittencourt RI, Daudt L, Contin LCZ, Burin MM, Spindler BM, Paiva MF, Sarturi B

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

A síndrome mielodisplásica (SMD) consiste em um grupo de desordens clonais da célula tronco hematopoética caracterizadas pela hematopose ineficaz, acarretando necessidade transfusional em mais de 60% dos pacientes. Ao mesmo tempo em que a transfusão de hemácias alivia a síndrome anêmica, ela impõe sobrecarga e toxicidade do ferro, fato que justifica a quelação de ferro. **Objetivo:** Conhecer o perfil da população com SMD em quelação de ferro no Serviço de Hematologia-HCPA. Verificar parâmetros de sobrecarga de ferro antes e depois da quelação. **Metodologia:** Estudo retrospectivo observacional, por meio da revisão de prontuários dos pacientes com SMD no período de 2009 a 2013. Variáveis de interesse: ferritina sérica, taxas de hemoglobina e número mensal de concentrados de hemácias (CHAD) pré e pós-quelação; valores da creatinina e transaminases como toxicidade do quelante. **Resultados:** Foram revisados 17 prontuários de pacientes em quelação: 10 mulheres e sete homens, com idade mediana de 72 anos. Pelas classificações 1) WHO: 5 AR/5 ARSA/3 CRDM/4 AREB; 2) IPSS-R: quatro = baixo risco, 11 = intermediário 1, e dois = intermediário 2, e 3) WPSS: seis = muito baixo risco, nove = baixo, e dois = intermediário. Ao iniciar a quelação, 15/17 apresentavam ferritina > 1500 µg/L. A taxa média de Hb foi 7g (4,8-11,2g) pré-quelação e 8,5g (6,8-11,6g) pós; a quantidade de CHADs 2,6u/mês (max = 4 min = 1). Todos os pacientes obtiveram aumento nas taxas de hemoglobina, mas 85% mantiveram necessidade

transfusional, embora 20% tenham reduzido o número de CHADs/mês, e 15% tornaram-se independentes de transfusões. Dose inicial do quelante foi 20 mg/kg/dia. Em três pacientes foi constatado aumento de creatinina. Em 14/17 (82%), a ferritina sérica reduziu em até 50%. O tempo médio de quelação foi 23m (6-48m). **Conclusões:** Nesta amostra, percebe-se nítida redução nas taxas de ferritina e aumento em taxas de hemoglobina durante a quelação. Em 15%, houve independência transfusional. A toxicidade encontrada foi alteração da função renal reversível após interrupção do quelante. Embora o número pequeno de pacientes não tenha poder para comprovação estatística, observa-se uma tendência de benefício com a redução da sobrecarga de ferro.

512. HEMATOPOIETIC CELL KINASE ACTS ON ERYTHROID DIFFERENTIATION BY EPO/PI3K PATHWAY

Roversi FM, Pericole FV, Machado-Neto JA, Palodetto B, Corrocher FA, Longhini AL, Duarte ASS, Traina F, Saad STO

Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Myelodysplastic syndrome (MDS) is characterized by ineffective hematopoiesis resulting in impaired differentiation and peripheral blood cytopenias. HCK belongs to the Src family that regulates diverse cellular responses mainly by activating PI3K signaling, an important pathway that contributes to cancer pathology. HCK has been described to be restricted expressed in hematopoietic cells. The aim of this work was to investigate HCK gene expression in total bone marrow (BM) cells and in CD34⁺ cells (HSC) from healthy donors (HDs) and MDS and AML patients. The effect of HCK silencing and drug inhibition on differentiation, apoptosis, proliferation, and cell cycle of HSC and leukemia cell lines was also evaluated. This study also analyzed HCK expression during erythroid differentiation of CD34⁺ from HD and MDS patients. Thirty-four HDs and 139 patients (MDS = 75 [low-risk = 46, high-risk = 29], AML with Myelodysplastic related changes (AML-MRC) = 21, and *de novo* AML = 43), at diagnosis, were included in the study. CD34⁺ (isolated from umbilical cord blood units and BM) and human leukemia cell lines (KG1a, U937, HL60, and P39) were transduced with lentivirus-mediated shRNA targeting LacZ or HCK. Apoptosis was evaluated by Annexin-V/PI, cell growth by CellTiter assay, and cell cycle by flow cytometry. The effects of a HCK specific inhibitor, ASN05260065, were also verified. HCK mRNA was significantly increased in HSC from patients with MDS and AML compared with HD cells ($p < 0.001$). HCK expression was significantly higher in low-risk MDS compared to high-risk and AML-MRC ($p < 0.001$), when patients were stratified according to WHO classification. Similar results were found in BM cells: HCK transcripts were significantly increased in MDS BM cells compared to HD BM, especially in the low-risk group ($p < 0.0001$). A negative correlation was observed between BM blast percentage and HCK expression in MDS patients. After HCK inhibition in HSC, the BFU-E colony number was significantly lower and a reduced cell death was observed. Interestingly, HCK mRNA was significantly upregulated during erythroid differentiation of MDS low-risk CD34⁺ cells but not in normal CD34⁺ cells. Using cell line models for study PI3K and MAPK signaling, this study observed a significantly decrease in the phosphorylation of AKT, mTOR, and ERK in shHCK cells compared to shLacZ cells ($p < 0.001$). Furthermore, treatment of shHCK cells with specific PI3K inhibitors (LY294002 and rapamycin) had no synergic effect. Confirming the HCK lentivirus silencing results, HCK specific inhibitor treatment downregulated the PI3K and ERK pathways, with consequent decrease of cell growth and survival, and block of the cell cycle in G2/M phase. HCK expression alteration in HSC and BM cells from MDS, mainly in low-risk MDS, and *de novo* AML might reflect the role of this protein in cell differentiation and death. Moreover, during MDS progression, the HCK expression reduction correlates with increasing blast percentage, probably indicating less dependence on micro-environment. Since HCK inhibition reduced BFU-E colony formation and HCK expression increases during erythroid differentiation of low-risk MDS CD34⁺ cells, it is suggested that HCK plays a role as a downstream effect or in erythropoietin signaling, which could explain the higher HCK expression in low-risk MDS. Finally, HCK is an important upstream regulator of PI3K and MAPK signaling that enhances cell survival and proliferation.

513. EXPRESSION OF PHOSPHATIDYLINOSITOL-4 KINASE CLASS II ALPHA (PIP4K2A) IN NORMAL AND MALIGNANT HEMATOPOIETIC CELLS

Lima K^a, Machado-Neto JA^b, Ribeiro DM^a, Campos PM^a, Santos MNND^a, Costa FF^b, Traina F^{b,c}, Saad STO^b, Sonati MF^a

- ^a Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil
^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil
^c Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Introduction: PIP4K2A is a lipid kinase that phosphorylates phosphatidylinositol at position four of the inositol ring, producing a second messenger. Two independent groups demonstrated that PIP4K2A silencing leads to augmentation of the PI3K/Akt signaling activation; in addition, a recent study suggested that PIP4K2A is important for the leukemia phenotype. However, its expression in normal and neoplastic hematopoietic cells is still undetermined. **Aims:** To evaluate PIP4K2A expression and cellular localization in normal leukocytes and leukemia cell lines and bone marrow cells from healthy donors and patients with myelodysplastic syndromes (MDS), acute myeloid leukemia (AML), and acute lymphoid leukemia (ALL). In addition, this study evaluated the impact of PIP4K2A expression in MDS outcomes. **Material and methods:** A total of 19 healthy donors and 118 patients at diagnosis [MDS = 54 (low-risk = 37, high-risk = 17), AML = 47, and ALL = 17] were included in the study. Total bone marrow cells were submitted to RNA extraction after hemolysis. A panel of human leukemia cell lines that included myeloid (HEL, KU812, HL60, KG1, THP1, U937, and NB4) and lymphoid cells (Jurkat, MOLT4, Daudi, Raji, Namalwa, and Karpas 422) was used. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were obtained by ficoll gradient separation from three healthy donors. Lymphocytes and monocytes were obtained by MIDI-MACS immunoaffinity. Granulocytes were obtained from polymorphonuclear cell fraction after hemolysis. PIP4K2A expression and localization was evaluated by quantitative PCR, Western blot, confocal microscopy, and cell fractionation assay. Appropriate statistical analyses were performed. **Results:** PIP4K2A was found to be a cytoplasmic and nuclear protein. Increased PIP4K2A expression was observed in normal leukocytes when compared to leukemia cell lines. PIP4K2A transcripts were significantly reduced in bone marrow cells from patients with ALL [median: 0.52 (range: 0.07-2.50); $p = 0.006$], compared with healthy donors [1.02 (0.38-2.80)]. No difference in PIP4K2A expression was observed between healthy donors, MDS, and AML patients. When the MDS group was stratified by the WHO 2008 classification into low- and high-risk MDS, PIP4K2A expression was significantly lower in the high-risk group, when compared with low-risk MDS [0.68 (0.34-3.69) vs. 1.23 (0.31-3.97), $p = 0.02$]. Four cutoffs were used [numerical and categorical values by median or by tertile] to verify whether PIP4K2A expression had some influence in the MDS outcomes. Interestingly, it was found that low PIP4K2A expression (lowest tertile vs. two higher tertiles) negatively impacted on overall survival of MDS patients by univariate analysis [HR: 2.82 (95% C.I.: 1.18-6.71), $p = 0.02$]. Corroborating this finding, the lowest PIP4K2A expression was associated with well-established MDS risk factors, including higher bone marrow blast percentage, high-risk group by WHO classification, and by IPSS-R (all $p \leq .01$; Fisher's exact test). **Conclusion:** The reduced expression of PIP4K2A in leukemia cell lines and primary ALL and high-risk MDS cells deserves further analysis, since other groups have shown that PIP4K2A down regulation leads to activation of the PI3K/Akt pathway, which is an important signaling pathway involved in proliferation and survival of leukemia cells and has been reported as active in these diseases. **Funding:** FAPESP and CNPq.

514. CARACTERÍSTICAS DAS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS EM UM SERVIÇO PRIVADO DE ONCO-HEMATOLOGIA NO NOROESTE DO RS

Sangoi KM^{a,b}, Strochein JR^a, Sangoi LM^b

- ^a Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, Brasil
^b Clínica de Oncologia e Hematologia das Missões, Santo Ângelo, RS, Brasil

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMD) são um grupo heterogêneo de doenças clonais da medula óssea, com características de hema-

topoiese ineficaz, citopenias refratárias e tendência ao desenvolvimento de leucemia mieloide aguda (LMA). Clinicamente, possuem ampla variação de manifestações clínicas e patológicas, quase sempre com citopenia de uma ou mais linhagens hematopoiéticas. A maioria dos casos em adultos é primária, com anomalias citogenéticas em 40% a 60%. Relacionados à exposição a agentes tóxicos, quimioterápicos e à radiação ionizante, podem ser caracterizadas como SMD secundárias. Ocorrem principalmente em idosos acima dos 65 anos. São classificadas em subtipos pela severidade e comprometimento da atividade medular, alterações citogenéticas e risco de progressão para LMA. Consideradas como doenças de ordem clonal da medula óssea, são descritas por pesquisas em todo o mundo. Estudos epidemiológicos com características sócio-demográficas e clínicas, incidência, tempo de sobrevida e evolução para leucemia são pouco encontrados na literatura brasileira. A relevância desta pesquisa é conhecer o perfil e comportamento das SMD atendidas num serviço privado de Onco-hematologia. **Materiais e métodos:** Estudo transversal retrospectivo, com análise de prontuários de pacientes no período de janeiro de 2009 até janeiro de 2014, que receberam diagnóstico de SMD. **Resultados:** Foram encontrados 26 diagnósticos de SMD: 11 (42%) homens e 15 (57%) mulheres. A média de idade foi de 77,8 anos ao receberem o diagnóstico. Em relação à classificação das SMD segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), seis pacientes foram diagnosticados com CRDUL (citopenia refratária com displasia unilinhagem), 13 com CRDML (citopenia refratária com displasia multilinhagem), quatro com AREB (anemia refratária com excesso de blastos) e um com LMMC (leucemia mielomonocítica crônica). Das 12 pessoas do sexo feminino que se submeteram a algum tipo de tratamento, 33,33% receberam hemoderivados/suporte, 33,33% foram submetidas a tratamento sintomático, nenhuma a quimioterapia exclusiva, 25% trataram com hemoderivados e sintomáticos e 8,33% receberam hemoderivados e quimioterapia. Das 12 pessoas do sexo masculino, 16,67% receberam hemoderivados/suporte, 25% foram submetidas a tratamento sintomático, 8,33% a tratamento quimioterápico, 25% receberam hemoderivados e sintomáticos e 25% receberam hemoderivados/quimioterapia. Houve progressão para LMA em quatro pacientes (15,4%). **Conclusão:** A anemia em pacientes idosos é um achado cada vez mais frequente na população mundial brasileira, uma vez que a expectativa de vida do brasileiro está aumentando. Neste contexto, as desordens clonais da medula óssea devem entrar no diagnóstico diferencial da causa das anemias, pois a SMD é a malignidade hematológica mais comum acima dos 80 anos. Nossos resultados estão compatíveis com dados epidemiológicos, com idade média de 77 anos ao diagnóstico. A relação da incidência/sexo demonstrou predomínio de mulheres, contrariando a literatura. A maioria dos subtipos de SMD, 79,1%, foram CRDUM, justificando pouca necessidade de quimioterapia e de evolução para LMA, confirmando dados da literatura, onde predominam diagnóstico de citopenias refratárias com baixa taxa de progressão para leucemia. O melhor entendimento das características das SMD em nossa população deve ser buscado, para que tenhamos compreensão do impacto da patologia na população.

515. VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE HIBRIDAÇÃO IN SITU FLUORESCENTE (FISH) PARA PESQUISA DA DELEÇÃO EM 5Q FREQUENTE EM PACIENTES COM SMD

Teixeira WG^a, Marques FK^b, Ângelo PC^a, Mateo EC^b, Ferreira ACS^b

- ^a Setor de Citogenética, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil
^b Setor de Pesquisa & Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil

A deleção no braço longo do cromossomo 5 (5q) envolvendo o gene EGR1 (*Early Growth Response 1*) é uma alteração cromossômica frequente na leucemia mieloide aguda e, principalmente, na síndrome mielodisplásica (SMD). A hibridação *in situ* fluorescente (FISH) tornou-se uma ferramenta útil para a prática clínica na avaliação de alterações cromossômicas associadas às neoplasias hematológicas. A vantagem desta técnica em relação à análise citogenética convencional é que permite detectar alterações específicas, às vezes submicroscópicas, em pequenas populações de células anormais, sem a necessidade de cultura celular. Desta forma, a análise por FISH é especialmente recomendável em casos de cariótipo normal na análise por bandamento G, e quando o crescimento celular é pobre ou ausente. De acordo com o Guia de Boas Práticas Laboratoriais em Citogenética e Genética Molecular Humana, e conforme recomendado pelo *American College of Medical Genetics (ACMG)*, o FISH deve ser validado analiticamente em cada laboratório clínico. Este trabalho mostra o

procedimento de validação do FISH para pesquisa da deleção em 5q, comum em pacientes com SMD, realizado no setor de Citogenética do Instituto Hermes Pardini, utilizando a sonda de DNA *Del(5q) Deletion Probe (Cytocell®)*. Metáfases obtidas a partir de cinco amostras de sangue periférico de indivíduos saudáveis do sexo masculino foram utilizadas para localizar a sonda e determinar a sensibilidade e a especificidade. Para estabelecer o ponto de corte (*cutoff* normal), foi estimada a taxa de falsos positivos a partir de 20 amostras de medula óssea de pacientes com cariótipos normais, não submetidas à cultura celular. As análises foram realizadas por dois analistas, totalizando 500 células (250 por analista). Foram registrados todos os padrões de sinais observados. Para cada padrão de sinal foi calculado o *cutoff*, utilizando as ferramentas do *Microsoft Excel* Função Beta Inversa (BETAINV) e Distribuição Binomial (CRITBINOM). Para a validação clínica, foi utilizada uma cultura de medula óssea de um paciente com SMD e cariótipo com deleção intersticial no braço longo do cromossomo 5. A sonda *Del(5q) Deletion Probe* apresenta sondas marcadas diferencialmente: a sonda controle para a região 5p15.31 marcada com fluoróforo verde, e a sonda EGR1 (5q31.2) marcada com fluoróforo vermelho. Assim, em uma célula normal, devem ser observados dois sinais verdes e dois sinais vermelhos (2Vd2Vm). Foram observados quatro padrões de sinais atípicos, designados como: 2Vd1Vm, 2Vd0Vm, 3Vd2Vm e 3Vd3Vm. Os *cutoffs* obtidos com a função BETAINV foram validados para contagem de 200 células. Os padrões de sinais e os respectivos *cutoffs* são: 2Vd1Vm (4,43%), 2Vd0Vm (2,34%), 3Vd2Vm (2,34%) e 3Vd3Vm (1,49%). A função BETAINV não permite um *cutoff* de zero e mostrou pouca alteração com o aumento da contagem de células. Na validação clínica de FISH, foi observada a deleção em 5q em concordância com o cariótipo com bandamento G. O teste apresentou especificidade e sensibilidade de 100%, superiores ao recomendado pelo ACMG. O método de FISH para a pesquisa de deleção em 5q foi considerado aprovado para realização no Setor de Citogenética do Hermes Pardini.

516. NECROSE DE MEDULA ÓSSEA (NMO) EM PACIENTE COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA (SMD) – RELATO DE CASO

Riani LR^a, Bergier LL^a, Romano SO^b, Gentili AC^b, Dobbin JA^a, Apa AG^a, Jr RD^b, Gonzaga Y^a

^a Serviço de Hematologia, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Serviço de Anatomia Patológica, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A necrose de medula óssea (NMO) é uma entidade clínico-patológica rara, caracterizada por necrose do estroma medular e dos tecidos hematopoéticos. Cerca de 80% dos casos estão relacionados à doença neoplásica, sendo as neoplasias hematológicas, especialmente as leucemias agudas, as causas mais frequentes. Relatamos um caso de NMO em paciente jovem com diagnóstico de síndrome mielodisplásica (SMD). Até onde sabemos, trata-se do primeiro caso relatado nesta condição. **Relato de caso:** Paciente feminina, 33 anos, diagnóstico de disgerminoma de ovário em 2006, tratada com cirurgia e quimioterapia (bleomicina, etoposídeo e cisplatina). Em 2013, evoluiu com quadro de pancitopenia, sendo encaminhada ao Serviço de Hematologia, onde foi diagnosticada SMD, AREB-2, com t(3;5) e IPSS-R intermediário. Iniciou tratamento com agente hipometilante (decitabina), evoluindo com remissão morfológica e citogenética. Como não possuía doador aparentado para transplante alogênico, foi mantido este tratamento e iniciada busca de doador não aparentado. No D16 do 12º ciclo, internou com quadro de neutropenia febril e lesões cutâneas. Iniciada antibioticoterapia com cefepime, vancomicina e voriconazol, e realizada biópsia cutânea, com resultado inespecífico. Evoluiu com piora clínica, febre persistente, disfunção respiratória, hemodinâmica e renal. Como não houve recuperação medular, foi realizado novo aspirado de medula óssea com imunofenotipagem, que evidenciou progressão de doença, com 11% de blastos mielóides; porém, a paciente não apresentava condições clínicas de realizar quimioterapia. Como todas as culturas foram negativas e a paciente evoluiu com piora progressiva das citopenias, foram realizados novo aspirado de medula óssea, que mostrou ausência de células viáveis em fundo amorfo eosinofílico, e biópsia, que evidenciou necrose extensa de medula óssea. Após o mielograma, optou-se por iniciar baixas doses de citarabina como medida heroica, porém, a paciente evoluiu para óbito por disfunção orgânica múltipla antes de iniciar a QT. O resultado da imuno-histoquímica da medula óssea, liberado após o óbito, foi negativo para CD34. **Discussão:** O

primeiro caso de NMO foi relatado em um paciente com anemia falciforme (AF), provavelmente envolvendo fenômeno vaso-oclusivo. A fisiopatologia da NMO nas condições malignas é menos compreendida, e pode envolver a oclusão vascular mecânica por agregados de células neoplásicas, bem como insulto inflamatório por citocinas liberadas pelo tumor. O prognóstico está normalmente relacionado à doença de base, não havendo evidências suficientes de que a NMO constitua fator independente de desfecho desfavorável. As leucemias agudas são, isoladamente, as principais etiologias da NMO, mas outras neoplasias, tanto hematológicas como sólidas, podem estar envolvidas, além de condições não oncológicas como a AF e infecções. Os achados mais frequentes são febre, dor óssea, citopenias e aumento de DHL. Não há, até onde sabemos, relato de NMO em paciente classificado exclusivamente como SMD de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS). **Conclusão:** Relatamos o caso de uma paciente com SMD, que evoluiu com NMO e evolução fatal após perda de resposta ao tratamento hipometilante

517. INVESTIGAÇÃO DE VIAS DESREGULADAS ENVOLVENDO RNA NÃO CODIFICADOR LONGO (LNCRNA) E EXPRESSÃO GÊNICA DE NR4A1 EM MIELODISPLASIAS E LEUCEMIA AGUDA

Corrocher FA^{a,b}, Palodetto B^{a,b}, Roversi FM^{a,b}, Baratti MO^{a,b}, Congrains A^{a,b}, Campos PM^{a,b}, Traina F^{a,b}, Niemann FS^{a,b}, Machado-Neto JA^{a,b}, Saad STO^{a,b}

^a Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Avanços nas análises em escala genômica do transcriptoma de eucariotos revelam que a maior parte do genoma humano é transcrita gerando um grande repertório de RNAs não codificadores (ncRNAs). Entre os diferentes tipos de ncRNA, os ncRNAs longos (lncRNAs) são compostos por mais de 200 nucleotídeos e, nos últimos anos, tem havido um aumento no número de estudos sobre a funcionalidade e diversidade desses RNAs que mapeiam regiões intrônicas e intergênicas. Análise do transcriptoma mundial mostra que até 70% dos transcritos têm parceiros no sentido antisenso, e que podem alterar a expressão do gene correspondente. Estes transcritos podem modular a expressão de genes através da regulação de vários processos, como o controle de transcrição epigenética e a estabilidade do mRNA, sendo principalmente identificados na regulação de eventos que desencadeiam neoplasias. Na hematopoiese, lncRNAs podem recrutar fatores de transcrição, coativadores e fatores de ativação da cromatina de genes específicos de linhagem, modulando assim a expressão do gene para induzir a diferenciação e maturação de células do sangue. Nesse contexto, a alteração da expressão dos mesmos pode causar o bloqueio da diferenciação normal e ativar vias leucêmicas. Neste trabalho, foi identificado um lncRNA transcrito na fita oposta (antisense) do gene NR4A1, cuja expressão está alterada em células CD34⁺ de pacientes com mielodisplasias. A análise do perfil de expressão deste transcrito foi verificada por PCR quantitativo, e observamos diminuição de expressão do gene NR4A1 e aumento do lncRNA em células CD34⁺ de pacientes com mielodisplasias comparado ao controle. O gene supressor tumoral NR4A1 tem sido associado às alterações nas vias de apoptose e proliferação em diversos tumores, e apresenta baixa expressão em leucemias agudas. Além disso, modelos animais com redução da dosagem deste gene desenvolvem síndrome mielodisplásica/mieloproliferativa, porém, a contribuição para a desregulação deste receptor nuclear (NR4A1) ainda permanece desconhecida. Observamos que tanto o perfil de expressão do gene NR4A1 como do lncRNA estão fortemente aumentados após a diferenciação megacariocítica em células de linhagem leucêmica, sugerindo provável envolvimento no processo. Com o objetivo de verificar se o lncRNA poderia atuar no controle da expressão de NR4A1, realizamos uma inibição transiente do lncRNA pelo método de transfecção lentiviral (shRNA) em linhagem celular leucêmica U937. As análises por PCR quantitativo mostraram que a inibição de 63% do RNA não codificador provocou uma diminuição considerável da expressão do gene NR4A1 quando comparado ao controle (gene LacZ). Os resultados até o momento indicam uma possível regulação do transcrito antisense sobre a transcrição gênica (NR4A1). Sabendo que a baixa expressão desses receptores está intima-

mente associada aos mecanismos moleculares e fisiopatológicos que desencadeiam SMDs e LMA, esses dados são de extrema importância para o entendimento dos mecanismos funcionais em tais desordens hematológicas.

518. ALTERAÇÕES DE IMUNOFENÓTIPOS DE CÉLULAS T E EXPRESSÃO DE IRF-1 E FOXP3 NOS PACIENTES COM SMD

Perazzio ADSB, Chauffaille MLLF

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

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMD) se caracterizam pela proliferação clonal das células da medula óssea, com produção ineficaz de linhagens celulares; porém, sua patogênese ainda é desconhecida. Estudos mostram funções imunológicas anormais e fenômenos autoimunes. Nos últimos anos, especial atenção tem sido dada aos aspectos imunológicos, os quais podem estar relacionados à patogênese das SMD. **Objetivos:** Realizar uma avaliação ampla da função das células T regulatórias (Treg) e marcadores imunes em pacientes com SMD, comparando a controles (CT), e associar a manifestações autoimunes. **Métodos:** Foram obtidas amostras de sangue periférico de 37 pacientes e de 28 CT. As Treg foram separadas por "sorting" (citômetro de fluxo) e cocultivadas por sete dias com células Tefetoras (Tefet) em diferentes concentrações, para avaliar a supressão celular mediada e quantificar a produção das interleucinas IL2, IL4, IL6, IL10, IL17, TNF e IFN no sobrenadante. Expressão de Foxp3 e IRF-1 foi realizada por RT-PCR no sangue periférico e nas células Treg. **Resultados:** A média de idade dos pacientes foi de 72 anos (23-93 anos) e a média de hemoglobina (Hb) foi de 9,6 g/dL (5,3-14,8 g/dL). Em relação à dependência transfusional, 29,7% necessitavam de suporte de concentrado de hemácias. 40,5% apresentaram o cariótipo alterado. Dezesesseis pacientes eram CRDM, dois CRDM-SA, três AR, oito ARSA, três AREB-1, quatro AREB-II e um Síndrome 5q-. O número de células Treg mostrou-se maior nos pacientes ($p \leq 0,01$), e quando estes eram classificados no escore WPSS, houve diferença no número de Treg entre os grupos baixo, intermediário e alto risco ($p \leq 0,01$ e $p \leq 0,01$, respectivamente), com maior quantidade no intermediário. Já a presença de cariótipo alterado não mostrou diferença no número de Treg. O número de células Tefet foi semelhante entre os grupos. O nível de Hb mostrou-se menor naqueles com alteração de cariótipo ($p \leq 0,05$). Já a expressão dos éxon 2 e 4/5 ($p < 0,01$) do gene IRF-1 mostrou-se diminuída nas células Treg dos pacientes comparada aos CT, e a expressão do Foxp3 nas Treg não se mostrou diferente nos grupos. Não se evidenciou correlação entre a expressão do Foxp3 e do IRF-1 nas Treg de sangue periférico dos pacientes com SMD. O nível de interleucinas IL2, IL4, IL6, IL10, TNF e IFN no sobrenadante de cultura celular mostrou-se menor nos pacientes com SMD quando Treg:Tefet:1:1 ($p \leq 0,01$), além de menor produção basal de IL10, TNF α e INF γ na cultura de Tefet isolado com estímulo, quando comparado aos CT. **Discussão:** O maior número de Treg nos pacientes com SMD e naqueles com a doença mais avançada poderia levar à tolerância do clone neoplásico na medula óssea, levando à progressão da doença e evolução para LMA. É possível haver algum mecanismo intrínseco que prejudique a função das Treg contra os clones autorreativos. A menor expressão do IRF-1 encontrada nas Treg serviria como fator de proteção contra doenças autoimunes, embora seja um fator de mau prognóstico na SMD. Por outro lado, já é sabido que a presença do IRF-1 pode diminuir a expressão do gene Foxp3. Entretanto, nesta avaliação, não se notou tal correlação negativa. A menor produção da IL10, TNF α e INF γ encontrada nas culturas dos pacientes com SMD revela um prejuízo da via Th1. Estudos adicionais são necessários para a elucidação das vias sinalizadoras intracelulares e dos fatores externos que podem contribuir para tal comportamento.

519. BRD4 E VIA DE RESPOSTA A DANO NO DNA EM MIELODISPLASIA E LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Pericole FV, Roversi FM, Duarte ASS, Palodetto B, Corrocher FA, Lazarini M, Traina F, Saad STO

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

Alterações epigenéticas modulam expressão gênica por meio de modificações na cromatina, ou mesmo por meio da "leitura" das alterações. BRD4 é membro das proteínas com domínio "bromodomain", com papel no remodelamento da cromatina e na regulação transcricional. BRD4 codifica duas isoformas, longa e curta. A isoforma curta do BRD4 foi descrita recentemente como um inibidor da via de resposta a dano no DNA (RDD). Em condições fisiológicas, DNA danificado induz fosforilação da histona

H2AX na serina 139 (γ -H2AX) e ativa cascata de sinalização, que bloqueia o ciclo celular e recruta fatores de reparo ao DNA. Embora descrito como um potencial alvo terapêutico em leucemia mieloide aguda (LMA), BRD4 nunca foi estudado em mielodisplasia (SMD) e seu papel na patogênese é desconhecido. **Objetivos:** Avaliar as expressões das isoformas longa (BRD4L) e curta (BRD4C) do BRD4 em pacientes com SMD e LMA, correlacionando com dados clínicos. Também avaliamos o papel do BRD4 na via RDD por meio de linhagens leucêmicas humanas. Para tanto, coletamos medula total diagnóstica de 24 doadores saudáveis (DS) e 99 pacientes, incluindo 48 SMD (22 de maior risco e 36 SMD de baixo risco) e 51 LMA (16 delas com alterações relacionadas à SMD, LMA-ARS). Também isolamos células CD34⁺ de sete DS, cinco LMA *de novo*, quatro LMA-ARS e 14 SMD (seis alto risco e oito baixo risco). As expressões gênicas de BRD4L e BRD4C foram avaliadas por meio de q-PCR e expressas como mediana (mínimo-máximo). Pacientes de SMD foram estratificados de acordo com IPSS, classificação OMS, R-IPSS e pelo risco citogenético. JQ1, um inibidor do BRD4, foi fornecido pelo Dr. James Bradner. Um painel de linhagens mieloides leucêmicas (KG1a, HEL, HL60, U937) em crescimento exponencial foi tratado com doses crescentes de JQ1, e analisamos viabilidade celular, apoptose e ciclo celular. Também avaliamos a expressão de p- γ H2AX após tratamento com JQ1. BRD4C apresentou expressão mais elevada em medula total de LMA (4,01 [0,33-2,58], $p = 0,01$) e de SMD (4,21 [0,01-56,17], $p = 0,01$) comparado a DS (2,11 [0,04-10,32], $p = 0,01$). Estratificados pela OMS, LMA-ARS (4,5 [0,33-25,22], $p = 0,04$) e SMD alto risco (4,66 [0,17-56,17], $p = 0,04$) apresentaram expressão elevada de BRD4C. Nas células CD34⁺, BRD4C foi elevado em LMA *de novo* (0,28 [0,21-0,45]) comparado a SMD de baixo risco (0,02 [0,00-0,44], $p = 0,01$). BRD4L não foi diferentemente expresso em medula total e células CD34⁺. Com mediana de seguimento de 34,4 meses, a expressão alta de BRD4C foi fator de mau prognóstico para transformação e sobrevida de SMD, além de IPSS, R-IPSS, anemia (Hb menor que 10 g/dL) e alta porcentagem de blastos. Após análise multivariada, expressão de BRD4C elevada e R-IPSS de maior risco permaneceram como fatores prognósticos independentes. JQ1 reduziu a proliferação celular e induziu bloqueio G0/G1 no ciclo celular, além de induzir apoptose e causar aumento progressivo na fosforilação da histona γ -H2AX, o que indica ativação da via RDD. SMD é uma neoplasia mielóide clonal caracterizada por significativas alterações epigenéticas. Nossos dados comprovam que BRD4C é um marcador prognóstico em SMD, relacionado a um fenótipo mais agressivo, maiores taxas de transformação e menor sobrevida global. Biologicamente, BRD4C desempenha um papel central na resposta inapropriada à via RDD observada em SMD, favorecendo a instabilidade gênica e a evolução clonal características da doença.

520. DEFEITO NA VIA PKCZETA/CXCR4 PODE ESTAR RELACIONADO COM A NÃO RESPOSTA DE CÉLULAS CD34+ DE PACIENTES DE SMD DE BAIXO RISCO AO CXCL12

Melo RCC^{a,b}, Longhini AL^{a,b}, Bigarella CL^{a,b}, Ricon L^{a,b}, Campos PM^{a,b}, Traina F^{a,b}, Saad STO^{a,b}

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

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

A proteína quinase C (PKCzeta) foi vista como central na via de sinalização CXCL12/CXCR4, por estar relacionada com o aumento da expressão de CXCR4 e sua viabilidade membranar. Além disso, a expressão de PKCzeta está relacionada com diferentes processos desencadeados por esta via, como migração, sobrevivência, proliferação e adesão celular de células CD34⁺ humanas. Sabe-se que células CD34⁺ de pacientes de SMD de baixo risco não respondem ao gradiente de CXCL12, mesmo apresentando níveis proteicos normais de CXCR4 e CXCR7. Este é outro receptor de CXCL12 que está envolvido na progressão tumoral em doenças não hematopoiéticas e na migração de células linfóides agudas-t. Recentemente, foi mostrado em nosso laboratório que células P39, modelo de estudo de SMD, não respondem ao CXCL12 e apresentam localização citoplasmática do receptor CXCR4. Porém, a hiperexpressão de PKCzeta em células P39 resultou na translocação de CXCR4 para a membrana e resgatou a capacidade migratória destas células em resposta ao CXCL12. Pensando nisso, nós avaliamos, por RT-PCR, a expressão gênica de CXCR4, CXCR7 e PKCzeta em células totais e células CD34⁺ de amostras de medula óssea (MO) controles (n =

5 e 3, respectivamente) e de pacientes com SMD de baixo risco (n = 4 e 6, respectivamente). Avaliamos também a expressão gênica de CXCL12 em células estromais de MO (n controles = 4 e n pacientes = 8). Já a localização de CXCR4 e CXCR7 em células CD34⁺ de MO controle (n = 1) e pacientes SMD baixo risco (n = 1) foi analisada por citometria de fluxo. Não foi observada diferença significativa na expressão de CXCR4, CXCR7 e CXCL12 entre os grupos analisados; porém, em relação à expressão de PKCzeta, há uma tendência para ser reduzida em células totais de pacientes de SMD de baixo risco quando comparada com as células das amostras controles (0.07 [0.01-5.35] vs. 3.58 [1.00-6.15], respectivamente). O mesmo efeito foi observado com as células CD34⁺ de MO SMD baixo risco comparadas com MO controles (0.69 [0.33-0.99] vs. 1.08 [0.67-1.39], respectivamente). Além disso, foi observada uma diferença na localização de CXCR4 entre as células dos grupos estudados: enquanto células CD34⁺ de MO controles apresentam este receptor na membrana celular e no citoplasma, nos pacientes SMD baixo risco estas células apresentam este receptor localizado somente no citoplasma. Esses resultados sugerem que a irresponsividade das células CD34⁺ de pacientes SMD baixo risco ao CXCL12 pode ser causada por um defeito na via PKCzeta/CXCR4 – ou seja, a redução de PKCzeta observada nestas células reduz a translocação de CXCR4 para a membrana celular, que se localiza então principalmente no citoplasma, consequentemente sendo a causa da não atração destas células pelo CXCL12.

521. ANÁLISE CITOGÊNÉTICA NO DIAGNÓSTICO DE 70 INDIVÍDUOS COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA

Monteiro FS^a, Favaro PCF^a, Salles ABC^b, Junior OR^c, Conte ACF^d

^a Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^b Laboratório de Genética, Fundação Faculdade Regional de Medicina (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^c Departamento de Medicina, Faculdade de Medicina e Enfermagem de São José do Rio Preto (FAMERP), Fundação Faculdade Regional de Medicina (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^d Departamento de Biologia Molecular, Faculdade de Medicina e Enfermagem de São José do Rio Preto (FAMERP), Fundação Faculdade Regional de Medicina (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brasil

As síndromes mielodisplásicas (SMD) definem um grupo de doenças clonais das células hematopoéticas caracterizadas por citopenias, displasia em uma ou mais linhagens celulares mieloides, hematopoese ineficaz e aumento do risco de evolução para leucemia mieloide aguda. A frequência de doentes que progridem para o câncer varia com o subtipo da doença, de acordo com a classificação da Organização Mundial da Saúde. A incidência anual é estimada entre 2 e 12 casos por 100 mil indivíduos na população em geral, e até 50 casos por 100 mil para as pessoas com idade igual ou superior a 60 anos. Os pacientes têm prognóstico variável de acordo com a anormalidade cromossômica, genética e/ou epigenética específica apresentada. O objetivo deste estudo foi descrever os dados citogenéticos em 70 indivíduos com diagnóstico confirmado para SMD. Estes pacientes não receberam qualquer tratamento e todos eles foram candidatos para estudos moleculares. Os diagnósticos dos 70 casos analisados foram feitos por dois hematologistas independentes. Entre esses casos, 25 apresentaram anemia refratária com excesso de blastos tipo 2 (AREB2), 21 citopenia refratária com displasia de multilineagens (CRDM), 18 anemia refratária com excesso de blastos 1 (AREB1) e seis anemia refratária com sideroblastos em anel (ARSA). As amostras de medula óssea foram cultivadas sem estimulação mitogênica, e foi feita análise citogenética convencional, realizada por banda GTG. Aproximadamente 20 células de cada um dos 70 casos foram analisadas; 66 (94%) amostras apresentaram cariótipos normais, e quatro (6%), anormais. Um caso apresentou monossomia 7, dois apresentaram hipodiploidia, e um apresentou cariótipo complexo, caracterizado pela inversão do cromossomo 3, deleção do braço longo do cromossomo 5, e deleção do braço longo do cromossomo 11. A frequência de alterações observadas é menor do que o descrito na literatura, mas deve-se considerar que existem limitações técnicas para esse tipo de análise. Além disso, a porcentagem de células anormais obtidas é pequena, a análise de cerca de 20 células em metafase pode não ser suficiente para a detecção de alterações em alguns casos, e alterações cromossômicas adicionais podem aparecer durante o curso da SMD, ou um clone anormal pode ser desenvolvido na medula óssea de pacientes com cariótipo anteriormente normal. As alterações citogenéti-

cas observadas nesse estudo provavelmente tiveram uma participação no desenvolvimento das SMD estudadas. Assim, é essencial que a avaliação citogenética por banda GTG seja realizada, para identificar alterações cromossômicas frequentes e raras, auxiliando no diagnóstico, prognóstico e tratamento dos pacientes com MDS. **Palavras-chave:** Síndrome mielodisplásica; análise citogenética; cromossomo. **Financiamento:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

522. IDENTIFICATION AND POSSIBLE REGULATORY ROLE OF A LONG NON-CODING RNA IN THE TLE1 (TRANSDUCIN-LIKE ENHANCER OF SPLIT 1) LOCUS

Congrains A, Machado-Neto JA, Corrocher FA, Baratti MO, Niemann FS, Saad STO

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

The advent of whole transcriptome sequencing technologies revealed a pervasive expression of antisense, overlapping, and inter-genic long non-coding RNAs (lncRNAs) from the human genome. Mounting evidence suggests that these transcripts play important roles in the epigenetic regulation of coding genes. They are known to recruit Polycomb repressive complexes and DNA methyl transferase 1 to mediate crucial processes such as chromatin modification and DNA methylation. In this context, it is not surprising that lncRNAs are emerging as key players in disease development and progression. lncRNAs are known to regulate important biological processes such as cell survival, proliferation, and differentiation, all processes relevant to hematopoiesis. However, only a few hematopoiesis-related lncRNAs have been identified and studied in close detail. Non-coding expression overlapping coding genes is very common and several examples of local regulation have been described in the literature. In this sense, the study of non-coding transcripts encoded in loci previously associated with hematologic malignancies offers the opportunity for discovery of new mechanisms governing hematopoiesis and hematologic disease. The Groucho human homologue, Transducin-like Enhancer of Split 1 (TLE1), is a transcriptional corepressor that modulates the acute myelogenous leukemia 1, Wnt, and Notch signaling pathways, and interacts with multiple transcription factors involved in hematopoiesis. Recently, several studies showed that TLE1 gene expression is downregulated in myelodysplastic syndrome (MDS) patients. The present study identified a novel lncRNA expressed from the TLE1 locus. Since impaired differentiation is characteristic of MDS, the authors investigated the role of this lncRNA in erythroid differentiation. CD34⁺ cells from six healthy donors were induced to differentiate into erythrocytes by erythropoietin. RNA was collected at six, eight, and 12 days after addition of erythropoietin, and differentiation was confirmed visually and by flow cytometry. The expression of the non-coding transcript and the coding of TLE1 were evaluated by quantitative RT-PCR. Both transcripts were regulated during erythroid differentiation, displaying the same pattern. The authors observed a significant downregulation of the non-coding transcript (p < 0.0001) and the TLE1 coding gene (p < 0.01) during the first stages of differentiation. These findings support a possible role of TLE1 and lncRNA in the TLE1 locus in erythropoiesis. Further study will be required to fully understand the involvement of this novel lncRNA in MDS biology.

523. ANÁLISE MOLECULAR DO GENE RASSF1A EM MIELODISPLASIA

Monteiro FS^a, Favaro PCF^a, Salles ABC^b, Junior OR^c, Conte ACF^d

^a Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^b Laboratório de Genética, Fundação Faculdade Regional de Medicina (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^c Departamento de Medicina, Faculdade de Medicina e Enfermagem de São José do Rio Preto (FAMERP), Fundação Faculdade Regional de Medicina (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^d Departamento de Biologia Molecular, Faculdade de Medicina e Enfermagem de São José do Rio Preto (FAMERP), Fundação Faculdade Regional de Medicina (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brasil

As síndromes mielodisplásicas (SMD) definem um grupo de doenças clonais das células hematopoéticas caracterizadas por citopenias, displasia

em uma ou mais linhagens celulares mieloides, hematopoese ineficaz e aumento do risco de evolução para leucemia mieloide aguda. Os pacientes têm prognóstico variável de acordo com a anormalidade cromossômica, genética e/ou epigenética específica apresentada. O objetivo deste estudo foi investigar a presença de mutações nos exons 3, 4 e 5 do gene *RASSF1A* em indivíduos com síndromes mielodisplásicas (SMD) ao diagnóstico e em controles normais. Foram realizados estudo citogenético por bandamento GTG e análise molecular dos exons 3, 4 e 5 do gene *RASSF1A* por sequenciamento direto de amostras de medula óssea (MO) de 50 casos com SMD. Também foram estudadas 50 amostras de indivíduos saudáveis, que constituíram o grupo controle. Foram estudados 31 (62%) casos com citopenia refratária com displasia multilineares, 14 (28%) com anemia refratária com excesso de blastos-1, quatro (8%) com anemia refratária com excesso de blastos-2 e um (2%) com anemia refratária. A análise citogenética revelou quatro casos com alterações clonais: um com monossomia do cromossomo 7, dois com hipodiploidia e outro com cariótipo complexo, caracterizado por inversão do cromossomo 3, deleção do braço longo do cromossomo 5 e deleção do braço longo do cromossomo 11. A análise molecular revelou dois (4%) casos com o polimorfismo Ala133Ser (A133S) no exon 3, com resultados citogenéticos normais. Nenhum dos 50 controles estudados apresentou qualquer alteração. As alterações citogenéticas observadas provavelmente tiveram participação no desenvolvimento das SMD estudadas. Mutações nos exons 3, 4 e 5 do gene *RASSF1A* em SMD ao diagnóstico parecem ser eventos raros e necessitam ser investigadas em casuísticas grandes. O polimorfismo encontrado já foi relacionado com outros tipos de câncer e pode estar envolvido na predisposição às SMD; entretanto, são necessários estudos da sua frequência na população brasileira. **Palavras-chave:** Mielodisplasias; polimorfismo; gene *RASSF1A*. **Financiamento:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

524. AVALIAÇÃO DA SOBREVIDA NOS PACIENTES COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA NO INCA

Riani LR, Apa AG, Schramm MT, Carrico K, Mello YB

Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMD) são caracterizadas por citopenias crônicas e maturação celular anormal, levando a anemia sintomática, infecções e sangramentos, assim como à progressão para leucemia mieloide aguda (LMA), em taxas variáveis. A maioria dos pacientes com SMD vai a óbito em consequência da falência medular. A história natural desses pacientes é variável, o que reflete as diferenças biológicas nos subtipos específicos de SMD, além dos fatores relacionados ao paciente. Alguns sistemas de classificação são usados para o diagnóstico (classificações da FAB e da WHO), e outros são úteis para determinação do prognóstico. O IPSS é o mais simples e o mais comumente usado; entretanto, apresenta algumas limitações. O IPSS-R introduz novas categorias citogenéticas em sua classificação e atribui valores diferentes à porcentagem de blastos da medula óssea. Apresentamos, neste estudo, uma coorte retrospectiva, de análise de sobrevida, composta por pacientes com diagnóstico de SMD no Instituto Nacional do Câncer (Inca). **Métodos:** Realizada coorte retrospectiva com pacientes com SMD primária e secundária, diagnosticados no Inca entre janeiro de 2000 e abril de 2014, classificados pela WHO e estratificados pelo IPSS e IPSS-R. Para estratificação e classificação, foram utilizados hemograma, mielograma e citogenética realizados ao diagnóstico. **Resultados:** Foram estudados 30 pacientes, sendo 23 (76,7%) do sexo feminino e sete (23,3%) do sexo masculino, com idades entre 13 e 87 anos (média de 52,9). Treze pacientes (43,4%) foram classificados com citopenia refratária com displasia unilinhagem. Uma única paciente apresentava-se ao diagnóstico com anemia refratária com sideroblastos em anel (3,3%). Onze (36,7%) pacientes foram classificados com citopenia refratária com displasia multilineares. Por sua vez, anemia refratária com excesso de blastos 1 e 2 representava, respectivamente, três (10%) e dois (6,7%) pacientes. Dos 30 pacientes, seis (20%), não apresentavam citogenética ao diagnóstico, e três (10%) não apresentaram metafases suficientes para análise citogenética, não sendo estratificados por IPSS e IPSS-R. A sobrevida global dos pacientes, calculada até 1º de julho de 2014, foi de 3.557 dias. O número de pacientes em cada grupo do IPSS e do IPSS-R foi pequeno, sendo o cálculo de sobrevida para cada grupo sem significância estatística. **Conclusão:** Descrevemos neste estudo a sobrevida global dos pacientes com SMD em nossa instituição. Observamos melhor sobrevida global quando comparados a outros grupos, talvez por conta da grande porcentagem de pacientes nos grupos de baixo risco, da melhora dos cuidados de suporte e da peque-

na amostra estudada. Observamos grande número de pacientes nos grupos intermediários 1 e 2 no IPSS, enquanto no IPSS-R maior número de pacientes é estratificado nos grupos de muito baixo/baixo risco ou alto/muito alto risco, possibilitando assim uma melhor separação entre os pacientes quanto à sobrevida global e ao risco de progressão para LMA, o que possibilitará uma melhor abordagem terapêutica desses pacientes, que antes tinham o seu risco sub ou superestimado pelo antigo score (IPSS). Alguns fatores de risco ainda deixaram de ser abordados nas estratificações prognósticas aqui utilizadas (risco molecular relacionado à biologia da doença, índices de comorbidades dos pacientes, performance, status e idade), o que permitiria avaliar melhor o risco/benefício das diferentes abordagens terapêuticas a serem oferecidas aos mesmos.

525. EFFECT OF QUERCETIN TREATMENT ON MIRNAS EXPRESSION PROFILE IN A HUMAN XENOGRAFT MODEL OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Alvarez MC, Maso V, Saad STO

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNAs consisting of 17-25 nucleotides that control gene expression by promoting degradation or repressing translation of target mRNAs. Since each miRNA regulates the expression of hundreds of target mRNAs, miRNAs can be seen as master-coordinators, efficiently regulating fundamental cellular processes such as proliferation, apoptosis, and development. Because of this, their deregulation appears to play a fundamental role in the onset, progression, and dissemination of many cancers, as well as many others diseases. miRNAs are known to be involved in normal hematopoiesis and have also been found to be essentially involved in the development of various hematological diseases. Quercetin (Qu) is one of the main flavonoids present in vegetables, fruit, and propolis, and is believed to exert anti-tumoral effects through several mechanisms: acting as an antioxidant, as an apoptosis inducer, as an anti-inflammatory agent, and as a chromatin remodeler. Thus, the aim of this work was to evaluate the effect of Qu treatment on the expression profile of 84 microRNAs in samples from a human xenograft acute myeloid leukemia (AML) model. A total of 1x10⁷ P39 cells (AML transformed from myeloid dysplastic syndrome (MDS), were subcutaneously injected in dorsal region of NOD. CB17-Prkdcscid/J mice (n = 12) (8-10 weeks old). Tumor volume was measured once every seven days and Qu treatment was initiated when tumors reached 100-200 mm³ (n = 6). The dose of 120 mg/kg bodyweight was given on each four days by peritoneal injection. The control group received vehicle only (n = 6). After 16 days, mice were sacrificed, tumors were removed, and total RNA including miRNA was extracted. Mature miRNAs were selectively converted into cDNA through the miScript[®] II RT KIT, and this cDNA was used as template for real time PCR analysis using Apoptosis miRNA PCR array; this array profiles the expression of 84 miRNAs that regulate programmed cell death by inhibiting pro-apoptotic and anti-apoptotic gene expression. After 16 days of treatment Qu was observed to modulate the expression profile of 19% of the evaluated miRNAs. Of these, 24% were up regulated, corresponding exclusively to miRNAs that target anti-apoptotic genes and to miRNAs that have been demonstrated to have pro-apoptotic functions, and 76% were down regulated; of these, 46% targeted both pro- and anti-apoptotic genes, 46% pro-apoptotic genes, and 8% anti-apoptotic genes. In summary, these results suggest that one of the mechanisms through which Qu might induce apoptosis is by upregulation of miRNAs that target anti-apoptotic genes, and by down regulation of miRNAs that have been characterized as having anti-apoptotic functions.

526. INVESTIGATION OF FOXO3 GENE BY DIRECT SEQUENCING IN PATIENTS WITH REFRACTORY ANEMIA WITH EXCESS OF BLASTS

Favaro PC^a, Monteiro FS^a, Junior OR^b, Nogueira ML^c, Conte ACF^d

^a Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brazil

^b Departamento de Medicina, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, SP, Brazil

^c Departamento de Doenças Dermatológicas, Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, SP, Brazil

^d Departamento de Biologia Molecular, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), Fundação Faculdade Regional de Medicina (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brazil

Refractory anemia with excess of blasts (RAEB) is a type of myelodysplastic syndrome (MDS). It is considered a kind of neoplasia, and accounts for 40% of all MDS cases, predominantly diagnosed in the elderly population. The patients present significant evidence of disordered myelopoiesis and megakaryocytopoiesis in addition to abnormal erythropoiesis. Due to differences in prognosis related to progression to acute myeloid leukemia (AML), the cellular classification considers two categories: RAEB-1 and RAEB-2. RAEB-1 is characterized by 5% to 9% blasts in the bone marrow, and approximately 25% of cases progress to AML. Median survival is approximately 18 months. RAEB-2 is characterized by 10% to 19% blasts in the bone marrow and approximately 33% of cases progress to AML. Median survival for RAEB-2 is approximately ten months. Currently, new research has established an association between genetic abnormalities and heterogeneity of types MDS. Some genes are strongly associated to the etiology and prognosis. The *FOXO3* gene is a tumor suppressor considered as one of the most commonly expressed gene in normal hematopoietic tissue, but not previously studied in MDS. Mutations in exon 1 have already been associated with other several types of cancer. The aim of this study was to investigate the exon 1 of *FOXO3* in bone marrow cells from patients diagnosed with both types of RAEB. Forty-eight patients and 100 healthy controls were studied. DNA was extracted from the bone marrow and gene amplification was performed by polymerase chain reaction. Exon 1 was investigated by direct sequencing. No rare mutations were found in exon 1, but the 159C > T polymorphism was detected in 15 (31.25%) patients and in 25 (25%) controls. The statistical analysis performed through the Fisher's exact test showed no significant difference between the groups. Mutations in exon 1 of *FOXO3* do not seem to be related to the etiology of RAEB. The 159C > T polymorphism appears to be a common finding in the Brazilian general population. **Keywords:** Refractory anemia with excess of blasts; myelodysplastic syndrome; *FOXO3* gene; direct sequencing; polymorphism.

527. PERFIL DE EXPRESSÃO DO RECEPTOR NRP1 EM LINHAGENS CELULARES LEUCÊMICAS E ESTROMAIS

Palodetto B, Corrocher FA, Roversi FM, Lopes MR, Baratti MO, Saad STO

Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Os mecanismos moleculares que envolvem a patogênese das mielodisplasias e leucemias agudas ainda são pouco compreendidos. Com o objetivo de compreender melhor a patogênese dessas doenças, nosso grupo de pesquisa realizou estudos de microarranjo com células CD34⁺ e estroma de pacientes com SMD de baixo risco, e foram identificados diversos transcritos com expressão diferenciada; entre eles, o gene *SEMA3A* estava hiperexpresso no estroma, e o gene *VEGFA*, hiperexpresso em células CD34⁺ desses pacientes. O gene *SEMA3A* sintetiza as semaforinas, que são uma grande família de imunoglobulinas que desempenham um papel importante no sistema imunológico e podem afetar a vascularização, a organogênese, a angiogênese e, conseqüentemente, a progressão de alguns tipos de câncer. O gene *VEGFA* codifica o fator de crescimento vascular endotelial, que é uma citocina capaz de estimular a proliferação, migração e aumento da permeabilidade às proteínas plasmáticas em células endoteliais, contribuindo assim para o crescimento tumoral e metástase. Esses genes têm um receptor em comum, o NRP1 ou neuropilina-1, que é um receptor transmembrana multifuncional capaz de desencadear diversas respostas, dependendo do seu ligante. Estudos demonstram que, em diferentes tipos de tumor sólido, os genes *VEGFA* e *SEMA3A* se comportam como antagonistas e podem competir entre si pela ligação ao receptor NRP1; porém, a função de *VEGFA* e *SEMA3A* em doenças hematológicas ainda é pouco conhecida. Analisamos o perfil de expressão de NRP1 nas linhagens: HEL, HL60, KG1, K562, Ku812, NB4, P39, U937, Daudi, Namalwa, Raji, Jurkat, Molt-4, HS5 e HS27. A expressão gênica foi analisada por PCR quantitativo, utilizando o gene *HPRT* como endógeno normalizador, e a linhagem Ku812 foi utilizada como amostra calibradora, pois apresenta o *Threshold cycle* mais próximo ao valor do

endógeno utilizado (*HPRT*). A expressão proteica foi analisada por citometria de fluxo, utilizando células marcadas com o anticorpo anti-neuropilina-1 e comparando a intensidade média de fluorescência obtida nas diferentes linhagens. Os dados de PCR quantitativo mostraram que as linhagens estromais apresentam expressão relativa no mínimo 48 vezes superior à amostra calibradora; entretanto, as linhagens leucêmicas, exceto HL60, mostraram redução de pelo menos duas vezes. A expressão proteica mostrou intensidade média de fluorescência de 1.913 [(553); 326-14.866], mas, novamente, a maior expressão foi encontrada em células estromais. Esses resultados sugerem que NRP1 possa atuar de forma autócrina na regulação das células estromais de pacientes com mielodisplasia, que mostram hiperexpressão de *SEMA3A* em seu estroma.

528. SPLICING FACTOR SF3B1 MUTATIONS IN MYELODYSPLASTIC SYNDROMES CHARACTERIZED BY THE PRESENCE OF RING SIDEROBLASTS

Donaires FS^a, Silva FMS^a, Magalhães SMM^b, Pinheiro RF^b, Calado RT^c

^a Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Hospital Universitário Walter Cantídio, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brazil

^c Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Background: Myelodysplastic syndromes (MDS) are a heterogeneous group of myeloid neoplasms showing ineffective blood cell production and predisposition to acute myeloid leukemia. Recent studies have reported mutations in the gene encoding RNA splicing factor 3B, subunit 1 (*SF3B1*), observed in particularly high frequencies in MDS patients whose disease is characterized by the presence of ring sideroblasts (RS). **Methods:** *SF3B1* was screened for mutation hotspots (exons 12 to 15) by direct Sanger sequencing in 91 MDS patients; 13 presented at least 15% RS in the bone marrow. **Results:** This study identified *SF3B1* heterozygous mutations in six patients, all of them presenting RS, which represented a high mutation frequency in this group (6/13), and highlighted the association between *SF3B1* mutations and disease phenotype with RS ($p < 0.0001$). **Conclusion:** The first screening for mutations in *SF3B1* gene of MDS patients in a Brazilian population is reported, indicating that although heterogeneity is observed in this disease, the increased frequency of *SF3B1* mutations in MDS characterized by the presence of RS occurs in different populations, which may have implications for therapeutic strategies.

529. ASSOCIAÇÃO ENTRE PROTEÍNAS DO PONTO DE CHECAGEM MITÓTICO E DO FUSO MITÓTICO E ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS EM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA

Genga KR^a, Filho FDR^a, Ferreira FVA^a, Sousa JC^a, Studart FS^b, Magalhães SMM^a, Heredia FF^a, Pinheiro RF^a

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

^b Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: Síndrome mielodisplásica (SMD) é uma doença clonal caracterizada por citopenias refratárias. As alterações citogenéticas representam o marcador de prognóstico de maior impacto nesta doença. A patogênese das alterações cromossômicas na SMD ainda não está elucidada. Proteínas relacionadas ao ponto de checagem mitótico (CDC20 e MAD2) e ao fuso mitótico (AURORA A e AURORA B) são associadas à instabilidade genômica. Avaliamos a expressão de CDC20, MAD2, AURORA A e AURORA B em pacientes com SMD e suas associações com alterações citogenéticas. **Material e métodos:** O estudo da expressão proteica foi realizado por imunistoquímica em 40 biópsias de medula óssea de pacientes portadores de SMD e em 10 controles (doadores de medula óssea). A expressão proteica foi interpretada de forma qualitativa (expressão positiva *versus* negativa) e quantitativa (% de células positivas após análise de 10 campos em aumento de 400x, assim como pela categorização das amostras positivas em grupos de expressão leve: < 10%, moderada: 10 a 49% e alta: ≥ 50%). O estudo das alterações citogenéticas foi realizado por banda-G (com análise de pelo menos 20 metafases em cada caso). **Resultados:** Detectamos maior frequência de expressão positiva de AURORA A entre os pacientes com citogenética

aneuploide ($p = 0,001$), cariótipo complexo ($p = 0,019$) e/ou anormal ($p = 0,034$). A análise quantitativa (média \pm DP, em %) mostrou maior expressão de CDC20 entre os pacientes com cariótipo complexo ($p = 0,030$) e maior expressão de AURORA B nos pacientes com citogenética alterada ($p = 0,037$). **Conclusão:** Estes resultados sugerem que estas proteínas estão relacionadas ao processo de instabilidade genômica e são relacionadas à gênese das alterações cromossômicas em SMD.

530. ASSOCIAÇÃO ENTRE PROTEÍNAS RELACIONADAS AO PONTO DE CHECAGEM MITÓTICO E GRAVIDADE DA PLAQUETOPENIA EM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA

Genga KR^a, Filho FDR^a, Ferreira FVA^a, Sousa JC^a, Studart FS^b, Magalhães SMM^a, Heredia FF^a, Pinheiro RF^a

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

^b Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: Síndrome mielodisplásica (SMD) é uma doença clonal caracterizada por citopenias refratárias. A gravidade das citopenias associa-se a piores desfechos clínicos. Proteínas relacionadas ao ponto de checagem mitótico (CDC20 e MAD2) são associadas à instabilidade genômica, podendo contribuir para a gênese e evolução das citopenias. Avaliamos a expressão de CDC20 e MAD2 em pacientes com SMD e suas associações com as citopenias. **Material e métodos:** O estudo da expressão proteica foi realizado por imunistoquímica em 40 biópsias de medula óssea de pacientes portadores de SMD e em 10 controles (doadores de medula óssea). A expressão proteica foi interpretada de forma qualitativa (expressão positiva *versus* negativa) e quantitativa (pela % de células positivas após análise de 10 campos em aumento de 400x, e pela categorização das amostras positivas em grupos de expressão leve: < 10%, moderada: 10 a 49% e alta: \geq 50%). **Resultados:** A análise quantitativa (média \pm DP, em %) mostrou maiores expressões de CDC20 ($p = 0,017$) e MAD2 ($p = 0,008$) entre os pacientes com contagens plaquetárias abaixo de 50.000/mm³. Detectamos maior frequência de plaquetopenias mais graves (plaquetas < 50.000/mm³) no grupo de pacientes com alta expressão proteica (\geq 50%), considerando-se ambas as proteínas analisadas ($p < 0,05$). **Conclusão:** Estes resultados sugerem que estas proteínas estão relacionadas à gravidade da plaquetopenia em SMD, podendo constituir importante marcador de mau prognóstico nesta doença.

531. TROMBOCITEMIA ESSENCIAL EM PACIENTE JOVEM

Peixoto SL, Peixoto JL, Haas AC

Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

Introdução: A trombocitemia essencial (TE) faz parte do grupo de neoplasias mieloproliferativas cromossomo Filadélfia negativas. Caracteriza-se pela hiperproliferação megacariocítica persistente, de caráter clonal, com consequente trombocitose periférica. A incidência, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), é de 0,6 a 2,5 casos por 100.000 habitantes/ano. A média de idade de diagnóstico é 65 a 70 anos, afetando mais mulheres que homens (2:1). É uma neoplasia mieloproliferativa rara em pacientes jovens. **Objetivo:** Relatar um caso de TE em paciente jovem. Discutir critérios diagnósticos, apresentação clínica e principais tratamentos. **Apresentação do caso:** M.L., 32 anos, feminino, branca. Consulta ambulatorial por trombocitose (plaquetas: 674.000) em exames de rotina. Assintomática, realizou nova contagem plaquetária, agora com 861.000 plaquetas. Realizou exames para elucidação diagnóstica com: sorologias para HIV, rubéola, hepatites e sífilis não reagentes, perfil do ferro normal, ecografia de abdome evidenciou baço de 127mm, bcr abl negativo, cariótipo normal (46,XX), mielograma com proliferação megacariocítica, anatomopatológico e imuno-histoquímica de medula óssea compatível com TE; 105 dias após primeiro hemograma apresentava 1.200.000 plaquetas, hb 12,6 e leucograma normal. Paciente iniciou uso de clopidogrel e hidroxiureia 20 mg/kg para citorredução (1g). Após três meses de tratamento, retorna com plaquetas de 325.000 e piora das transaminases, sendo programada retirada gradual da hidroxiureia, passando para 500 mg/dia. Paciente apresentou quadro neurológico compatível com acidente isquêmico transitório (AIT), com paresia de membro superior direito e disartria, com recuperação posterior. Avaliada por neurologista, sendo excluídas outras etiologias. Por conta do aumento progressivo da contagem plaquetária e do evento tromboembólico (AIT), foi reiniciada hidroxiureia 500 mg/dia.

Discussão: A TE é uma neoplasia mieloproliferativa caracterizada pela elevação sustentada de plaquetas, com tendência a eventos tromboembólicos e hemorrágicos durante seu curso clínico. Critérios diagnósticos (OMS): contagem plaquetária $\geq 450 \times 10^9/L$ mantida (> 2 meses); biópsia medular demonstrando proliferação da linhagem megacariocítica com número aumentado de megacariócitos maduros e grandes; ausência de aumento significativo ou desvio à esquerda de granulopoiese neutrofílica ou eritropoese. Sem critérios OMS para outras neoplasias mieloides. Demonstração de JAK2V617F ou outro marcador clonal, ou na ausência de JAK2 V617F, sem evidência de trombocitose reativa. As manifestações clínicas dominantes são trombóticas e/ou hemorrágicas. A maioria dos casos é assintomática ao diagnóstico (cerca de 85%). A TE tem melhor prognóstico que as outras doenças mieloproliferativas, graças à baixa transformação leucêmica de aproximadamente 2% em pacientes com TE não tratados. A transformação em leucemia pode demorar de 1,7 a 16 anos. A abordagem terapêutica na TE centra-se na redução do número de plaquetas e na prevenção das complicações trombóticas e hemorrágicas. **Conclusões:** A TE é uma doença crônica mieloproliferativa clonal de comportamento relativamente benigno, mas podem ocorrer fenômenos trombo-hemorrágicos. É importante considerar o diagnóstico de trombocitemia essencial mesmo em pacientes jovens. Uma vez que o diagnóstico é estabelecido, permite a redução e prevenção das complicações dessa patologia e uma melhor abordagem terapêutica.

532. EVALUATE IRON STATUS, OXIDATIVE DAMAGE AND TNF- LEVELS IN PATIENTS WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROMES AND TRANSFUSIONAL IRON OVERLOAD

Souza GF^a, Barbosa MC^a, Reis PFF^b, Pinheiro RF^a, Magalhães SMM^a

^a Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brazil

^b Universidade Federal de Roraima (UFRR), Boa Vista, RR, Brazil

Introduction: Myelodysplastic syndromes (MDS) are characterized by ineffective hematopoiesis and dysplasia in one or more cell lines, peripheral cytopenias, and a variable risk of progression to acute leukemia. The pathogenesis is complex and involves hematopoietic stem cells, bone marrow microenvironment, and interaction between them. Anemia is present in 80% of patients. Many develop transfusion dependence and iron overload (IOL), which leads to generation of reactive oxygen species (ROS). Oxidative stress, together with tumor necrosis factor alpha (TNF- α), have been implicated in the pathogenesis and evolution of MDS. **Purpose:** To evaluate the relationship of iron status with oxidative damage (plasma nitrite (NO₂-), malonaldehyde (MDA), and the TNF- α levels in patients with MDS, followed at the Hematology Unit of the Federal University of Ceará. **Materials and methods:** This study analyzed 101 patients with MDS, 24 with and 77 without transfusional IOL, from May 2010 to September 2011. The control group comprised 87 healthy individuals. The study was approved by the local Ethics Committee. IOL was defined serum ferritin $\geq 1,000$ ng/mL. The dosage of malonaldehyde (MDA) was based on its reaction with thiobarbituric acid (TBARS) at a temperature of 100°C, and plasma nitrite (NO₂-) based on the diazotization reaction, which forms a chromophore with peak absorbance at 560 nm. Levels of cytokines in the plasma were measured using commercially available human ELISA kits. All statistical analyses were performed using the GraphPrism program. **Results:** Evaluation of the iron profile for the groups of patients showed an increase among them and in the control. A significant increase was observed in MDA and nitrite in patients with IOL when compared to the other groups ($p < 0,0001$). MDA and nitrite were directly correlated with serum ferritin (FRT) ($r = 0,3328$, $p = 0,0033$, $r = 0,4255$, $p < 0,0001$, respectively). The group with IOL showed higher TNF- α in relation to the group without IOL and the healthy group ($p < 0,001$). There was a positive correlation between the TNF- α levels and serum ferritin ($r = 0,4165$ $p = 0,0002$). **Conclusions:** This study revealed a direct relationship between iron overload and oxidative process markers. It reinforces the hypothesis of a possible association between the accumulation of iron due to blood transfusion and increased susceptibility to the development of a hyperoxidative state in patients with MDS and IOL, favoring a higher incidence of organic lesions. The biomarkers of oxidative stress can be used as a risk-benefit assessment of transfusion therapy. These data provide new information about the pathogenesis of this heterogeneous disease and may provide the basis for new therapeutic interventions with drugs that inhibit TNF- α .

533. SÍNDROME MIELODISPLÁSICA: FREQUÊNCIA DE ACHADOS CITOGENÉTICOS E CLASSIFICAÇÃO OMS

Pola L, Pinto APART, Moala JTS, Forte A, Garcia LYC, Pereira RADA, Lopes ACW

Laboratório TechLife, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A síndrome mielodisplásica (SMD) compreende um grupo de doenças hematológicas de origem clonal, caracterizadas por citopenia(s), displasia em uma ou mais linhagens hematopoiéticas e hematopoiese ineficaz. A incidência estimada é de 3-5/100.000 indivíduos, aumentando para mais de 20/100.000 em indivíduos com mais de 70 anos. Com base nas características da(s) citopenia(s), grau de displasia, presença de sideroblastos em anel e percentual de blastos no sangue periférico e/ou medula óssea, a Organização Mundial da Saúde (OMS - 2008) reconhece diferentes entidades clínicas dentro do grupo das síndromes mielodisplásicas. O cariótipo de medula óssea tem papel importante na confirmação diagnóstica (demonstração de clonalidade) e é essencial na classificação e na avaliação prognóstica. De acordo com a literatura, cerca de 50% dos pacientes apresentam anormalidades cromossômicas. **Objetivo:** Demonstrar as principais alterações citogenéticas em pacientes com hipótese diagnóstica de SMD em nosso serviço, e correlacionar com a classificação da OMS. **Materiais e métodos:** Foi realizado um levantamento retrospectivo de todos os cariótipos com hipótese diagnóstica de SMD, no período de agosto de 2013 a julho de 2014, em um laboratório privado de citogenética de São Paulo. Foi realizada revisão dos prontuários em busca da classificação com base na OMS, a partir de achados morfológicos, histológicos e imunofenotípicos. Foram excluídos os pacientes que, no seguimento, foram diagnosticados com outras condições que não a SMD. Os pacientes que não dispunham de informações adicionais foram mantidos. **Resultados:** Foram realizados 60 cariótipos com hipótese diagnóstica de SMD no período. Foram excluídos 17 pacientes que foram diagnosticados com outras condições após investigação clínica. A mediana de idade foi de 65 anos, e a distribuição por sexo foi semelhante. Seis pacientes (14%) apresentaram cariótipo alterado, sendo a del(20) a alteração mais frequente (três pacientes). Outras alterações observadas foram del(10), monossomia 7, trissomias dos cromossomos 8, 13, 20 e 21, isocromossomo Xp e nulissomia Y. Foi possível obter informação do prontuário de 19 pacientes: um paciente foi classificado como anemia refratária com sideroblastos em anel, um paciente como anemia refratária com excesso de blastos-1 (AREB-1), três pacientes como anemia refratária com excesso de blastos-2 (AREB-2), oito casos como citopenia refratária com displasia multilinhagem, cinco casos como anemia refratária com displasia unilinhagem e um caso como leucemia mielomonocítica crônica. **Discussão:** As alterações cromossômicas mais comumente associadas à SMD descritas envolvem os cromossomos 5, 7, 8, 11, 13, 17, 20, 21 e X, sendo nossos achados compatíveis com a literatura. Na hipótese diagnóstica de SMD, a repetição do cariótipo deve ser conduzida em até seis meses, se houver modificação de curso clínico, pois anormalidades não detectadas ao diagnóstico podem ser observadas em amostras sequenciais. Variáveis interferentes de coleta e de representatividade celular, como fibrose, hipoplasia ou hemólise, entre outras, devem ser consideradas no diagnóstico e classificação de SMD, já que podem levar à menor frequência de alterações em relação ao esperado, encontrada neste trabalho. O estudo das alterações cromossômicas é relevante não só no diagnóstico, já que projeta prognóstico e evolução do paciente.

534. PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE ENSAIO DE MICRONÚCLEOS COM BLOQUEIO DE CITOCINESE (CBMN) EM LINHAGENS CELULARES DE SMD E LMA

Akutsu SN, Noronha TR, Chauffaille MLLF

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

As síndromes mielodisplásicas (SMDs) e as leucemias mieloides agudas (LMAs) são doenças que têm como característica diversas alterações citogenéticas que estão intimamente ligadas ao diagnóstico das doenças. A instabilidade cromossômica é considerada um dos mecanismos que originam anormalidades em células hematopoiéticas, pela falha no sistema de reparo de danos no DNA. Quando há erro durante a segregação de cromossomos na mitose, cromossomos não-pareados formam um núcleo separado dos núcleos das células-filha, o qual chamamos de micronúcleo (MN). O aumento da frequência de MNs é um dos marcadores da instabilidade cromossômica. O ensaio de micronúcleos com bloqueio de

citocinese (CBMN) consiste em avaliar a frequência de MN em diversos tipos de células. O objetivo do trabalho foi padronizar a técnica de CBMN em duas linhagens celulares: MDS-LGF e MOLM-13, respectivamente, linhagem celular de SMD e de LMA (SMD transformada para LMA), com uso de fluorescência e exposição das células a diferentes níveis de radiação gamma. **Materiais e métodos:** Duas linhagens celulares MDS-LGF e MOLM-13 foram incubadas a 37°C, em ambiente úmido contendo 5% de CO₂, separadamente, em tubos de cultura T-Corning, com 5mL de RPMI-1640 e 15% de soro fetal bovino +200uL de antibiótico gentamicina (G418Sulfato), por 24 horas. Após 24 horas, diluiu-se em novo meio de cultura celular 2.5x10⁵ células/cultura, sendo cinco culturas de cada linhagem, que foram submetidas à radiação de ¹³⁷Cs (Gammacell 40 Extractor) em diferentes níveis (0Gy, 0,5Gy, 1Gy, 1,5Gy e 2Gy), e adicionada citocalasina B (3 mg/mL DMSO) em cada uma das culturas, por 48 horas. Todo o material foi centrifugado a 500rpm (Shandon CytoSpin Centrifuge), diretamente para as lâminas de vidro, e imediatamente transferido para fixação no metanol 100%. Lavado duas vezes em PBS(-), seguido de lavagem em solução PBT para adição do primeiro anticorpo 1/300 CENP-A, C51A7- Rabbit mAb Mouse Specific; seguido de lavagem com solução 10% PBS-T e adição de um segundo anticorpo 1/300 Alexa Fluor 546 dye+ 1/1000 FITC fluorescein dye + HOECHST 33258. Às lâminas novamente lavadas duas vezes com PBS(-), adicionou-se solução de fixação para as fluorescências (**fluorescence mounting medium**) e cobriu-se com lamínula de vidro, para serem visualizadas em microscópio de fluorescência (Keyence BZ-900). **Resultados:** Foram observadas 2.000 células binucleadas e contabilizadas à frequência de micronúcleos das linhagens celulares MOLM-13 e MDS-LGF em todos os níveis de exposição à radiação, além de ser possível observar MN positivos e MN negativos, respectivamente, com marcação do anticorpo CENP-A (cinetócoro) e sem marcação. Observou-se um aumento da porcentagem de MN conforme aumentava o nível de radiação, sendo que a linhagem MOLM-13 teve maior porcentagem a 2Gy (3,2%) comparada à linhagem MDS-LGF a 2Gy (6,35%), o que indica que a LMA apresenta maior instabilidade cromossômica que a SMD quando exposta a altos níveis de radiação. **Conclusão:** Foi possível a padronização da técnica CBMN a partir de linhagens celulares de SMD e LMA com fluorescência.

535. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DE PROGNÓSTICO EM SMD DE NOVO: ANÁLISE DE PACIENTES NA ARGENTINA E BRASIL

Velloso EDR^a, Pinheiro RF^b, Rosenhain M^{c,d}, Correa W^{d,e}, Novoa V^{d,f}, Rivello HG^{d,g}, Aranguren PN^b, Tanizawa RSS^a, Larripa IB^h, Magalhães SMM^b, Belli C^{d,i}

^a Serviço de Hematologia, Hospital das Clínicas, São Paulo, SP, Brasil

^b Departamento de Medicina Clínica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará (UFC), Ceará, CE, Brasil

^c Hospital Tornú, Buenos Aires, Argentina

^d Argentine MDS Study Group, Argentine Society of Hematology

^e Fundagen Centro de Genética, Buenos Aires, Argentina

^f Laboratorio de Inmunología, Hospital General de Agudos "Dr. C. Durand", Buenos Aires, Argentina

^g Laboratorio de Patología, Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

^h Instituto Privado de Hematología y Hemoterapia, Paraná, Argentina

ⁱ Laboratorio de Genética Hematológica, Instituto de Medicina Experimental (IMEX-CONICET), Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina

Apesar de estudos relatarem diferenças clínicas em portadores de síndrome mielodisplásica (SMD) na Europa e Ásia, muito pouco se sabe sobre as características de pacientes sul-americanos (SA). O objetivo deste trabalho foi descrever as características clínicas e avaliar variáveis e sistemas prognósticos internacionais em população SA afetada por SMD. Foi feita análise retrospectiva de 727 pacientes com SMD **de novo**, com diagnóstico realizado entre 1981 e 2014, sendo 472 procedentes da Argentina (Ar) e 255 do Brasil (Br). Foram incluídos portadores de SMD **de novo** classificados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e excluídos pacientes com leucócitos > 12.000/mm³ e neutrófilos absolutos > 8.000/mm³, segundo critérios de Greenberg, 2012. A mediana de idade foi 69 (15-99) anos, relação masculino/feminino de 1,2/1 (402/325). Pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas (5%) ou a tratamento com agentes hipometilantes (13%) foram censurados na data do início do tratamento. Em uma mediana de 18 meses, 106 (15%) evoluíram para leucemia mieloide aguda (LMA), e 272 (37%) foram a óbito. Em relação às

características clínico-laboratoriais, observaram-se similaridades entre os pacientes brasileiros e argentinos em relação ao gênero (1,3 vs 1,2; $p = 0,640$), mediana de idade (64 vs 66; $p = 0,132$), porcentagem de blastos na medula óssea (3,8 vs 3,5; $p = 0,308$), valor absoluto de neutrófilos (1.912 vs 2.060/mm³; $p = 0,182$) e contagem plaquetária (152.351 vs 162.923/mm³; $p = 0,309$). Observou-se igual porcentagem de cariótipos anormais (42% para ambos; $p = 0,954$) e igual distribuição da citogenética entre grupos de risco definidos no IPSS ($p = 0,537$) e IPSS-R ($p = 0,441$). Entretanto, a mediana da taxa de Hb (8.4 g/dL vs 9.6 g/dL, $p < 0,001$) e a distribuição entre os subtipos definidos na classificação da OMS mostraram diferenças ($p < 0,001$); a série brasileira mostrou maior predominância de ARSA (10% vs 2%-Ar) e menor porcentagem de CRDM (36% vs 46%-Ar). A distribuição nos diferentes grupos de risco definidos pelo IPSS e IPSS-R mostrou-se significativamente diferente nas duas populações ($p = 0,01$ e $p = 0,005$, respectivamente), mostrando maior prevalência de baixo risco nos pacientes argentinos (IPSS baixo: 40% vs 26%-Br e IPSS-R muito baixo: 22% vs 14%-Br). As diferentes variáveis prognósticas foram estudadas em relação à sobrevida global (SG) nas duas populações e na população total. Observou-se maior SG na população-Ar, refletindo a maior predominância de pacientes de menor risco (60m vs 43m-Br; $p = 0,024$). Gênero, plaquetas, blastos na medula óssea, grupos de risco citogenético, subgrupos IPSS e IPSS-R foram úteis para prognóstico tanto na população global como nas duas séries. Idade não foi fator preditor de sobrevida, tanto na população global como na Br, e o valor de neutrófilos mostrou-se limitrofe na série Ar. Concluímos que estas duas séries de pacientes sul-americanos com SMD *de novo* apresentam mais similaridade do que disparidades. Além disso, o sistema IPSS-R e as variáveis que a compõem mostram boa reprodutibilidade e são eficazes em prever sobrevida global em toda a população estudada.

536. O SILENCIAMENTO DE NIX (BNIP3L) AUMENTA A APOPTOSE INDUZIDA POR DECITABINA EM CÉLULAS U937

Lazarini M^a, Machado-Neto JA^a, Duarte A^a, Pericole F^a, Ferro KP^a, Campos PM^a, Traina F^b, Saad STO^a

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

^b Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Alterações no balanço entre proteínas pró e anti-apoptóticas estão associadas à progressão de síndromes mielodisplásicas (SMD) e à evolução para leucemia mieloide aguda (LMA). NIX é um membro da família de proteínas Bcl-2 com um domínio BH3, com funções tanto na morte quanto na sobrevivência celular, por meio da regulação dos processos de apoptose e autofagia. Nós observamos uma alteração na expressão de NIX em pacientes com SMD e LMA. Além disso, sabe-se que sua expressão é induzida por 5-Aza-2-deoxicitidina (decitabina ou DAC) em linfoma de células do manto; porém, a participação de NIX na resposta ao tratamento com DAC nunca foi avaliada em células leucêmicas. **Objetivo:** Avaliar os efeitos do silenciamento de NIX na resposta de células U937 ao tratamento com DAC. **Métodos:** O silenciamento de NIX foi realizado em células U937 por meio de transdução mediada por lentivírus (shNIX). Células transduzidas com lentivírus com sequência para inibição de LacZ foram utilizadas como controle (shControle). O crescimento clonal foi avaliado em meio semi-sólido, a viabilidade celular foi avaliada por MTT e apoptose e autofagia foram avaliadas por meio de citometria. As expressões de NIX, Bcl-2, Caspase 3, p62, Beclin and LC3 foram investigadas por *western blot*. Todos os experimentos foram realizados em células tratadas ou não com 1µM ou 5µM de DAC por 72 horas. **Resultados:** O silenciamento de NIX em células U937 reduziu a viabilidade celular (MTT) e formação de colônias ($p < 0,05$), e o tratamento com DAC nas doses de 1µM e 5µM induziu a expressão gênica e proteica de NIX. Além disso, a apoptose induzida por DAC foi maior em células com inibição da expressão de NIX do que em células controle. Este efeito foi confirmado pela redução na viabilidade celular e aumento da expressão da forma ativa da caspase 3. O processo de autofagia e a expressão de Bcl-2 não foram alterados pelo silenciamento de NIX em células U937 tratadas com DAC. **Conclusões:** Nossos resultados indicam que NIX induz a sobrevivência de células U937, e sua expressão é aumentada pela decitabina. Além disso, a combinação da inibição de NIX com o tratamento com decitabina pode ser uma estratégia mais efetiva de indução de apoptose em células malignas. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

537. MUTATIONS IN FLT3, NPM1 AND JAK2 GENES IN BRAZILIAN PATIENTS WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROMES

Bezerra MF^{a,b}, Hadj-Idris BRL^a, Lima ASM^a, Andrade ATC^a, Fertrin K^c, Machado CGF^d, Neto JF^d, Lucena-Araujo AR^a, Bezerra MAC^a

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

^b Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Recife, PE, Brazil

^c Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^d Hemocentro de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brazil

Introduction: Myelodysplastic syndromes (MDS) are a group of clonal hematologic diseases with a wide range of clinical presentations, featuring different degrees of bone marrow failure and possible evolution to acute leukemia. The molecular aspects of MDS pathogenesis are still limited, and have focused on gene mutations found in other myeloid neoplasms, such as those involving FLT3, NPM1, and JAK2. This study analyzed the gene mutational profile and clinical-laboratorial features of MDS patients. **Methods:** Eighty-eight patients were screened for JAK2 V617F, NPM1, FLT3 -ITD, and FLT3 -TKD mutations. Mutation analyses were performed using RFLP-PCR. Clinical-laboratorial data were retrospectively obtained from medical files. **Results:** The mean age was 63 years and the male/female ratio was 0.95. According to FAB criteria, 54% of patients were classified as refractory anemia (RA), 25% as refractory anemia with excess blasts (RAEB), 10% as refractory anemia with ring sideroblasts (RARS), and 4.5% as chronic myelomonocytic leukemia (CMML) (the remaining 5.6% were classified as hyperfibrinolytic MDS). The WHO classification was applied in 77 patients, of whom 37% had refractory cytopenia with multilineage dysplasia (RCMD), 20.8% had refractory cytopenia with unilineage dysplasia (CRDU), 14.3% had refractory anemia with excess blasts I (RAEBI), 5.2% had refractory anemia with ringed sideroblasts (RARS), 15.6% had refractory anemia with excess blasts II (RAEBII), 5.2% had 5q-syndrome, and 1.3% had unclassifiable MDS. Cytogenetic analysis was successfully performed in 35 (40%) patients. Among them, 24 (69%) showed normal karyotype. Thirty-three patients were included in IPSS classification, of which 36% were classified as low risk, 58% as intermediate-1 risk, and 6% as intermediate-2. Regarding morphological findings in the bone marrow, the majority of patients (44.3%) exhibited a hypercellular bone marrow, while hypocellularity and normocellularity corresponded to 34% and 22%, respectively. In bone biopsy, reticular fibrosis was identified in eight (9%) patients and presence of ALIP in seven (8%) patients. Regarding the molecular, only seven (8%) had some genetic abnormalities: FLT3/D835 mutation was not detected in any patient. JAK2 V617F mutation was observed in four patients (4.5%), FLT3/ITD in one patient (1.1%), and NPM1 exon 12 mutations in two (2.2%) patients. **Discussion:** This study found a low frequency of such mutations in MDS patients, similar to reports from other parts of the world. Recent studies suggest that the acquisition of FLT3/ITD or JAK V617F mutations are associated with transformation of MDS to AML, acting as a secondary, later event in the progression of the disease. The presence of FLT3/ITD mutation in one of the patients with high grade MDS (RAEB) corroborates these findings. The absence of FLT3/D835 mutations in this population suggests it may be more associated with more aggressive myeloid neoplasms. The JAK2 V617F-positive patients ranged from low-grade to high-grade MDS and CMML, suggesting that it may be found in association with any clinical expression. **Conclusion:** Periodic testing for these mutations may be a valid approach in a clinical trial setting in order to determine whether it represents a risk factor for more rapid leukemic transformation of MDS.

MIELOMA MÚLTIPLO

538. MIELOMA MÚLTIPLO: UM CASO ATÍPICO

Nascimento PF, Ferreira CAM

Faculdade de Medicina de Petrópolis (FMP), Petrópolis, RJ, Brasil

Introdução: O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia hematológica agressiva, que afeta caracteristicamente a população idosa. É o principal representante das neoplasias plasmocitárias. As manifestações clínicas

aparecem de forma progressiva, acometendo o sistema hematológico, a função renal e os ossos. A infecção é a principal causa de morte nestes pacientes. **Objetivos:** Apresentação de um caso clínico de MM não típico, por ser oligossintomático e com a evolução drástica, associado a exames laboratoriais inconclusivos ou negativos, que demonstram a importância da pesquisa exaustiva para causa etiológica das manifestações clínicas. **Relato de caso:** Paciente de 60 anos, sexo masculino, admitido no Hospital Alcides Carneiro – Petrópolis (RJ) com queixa principal de “dor no corpo”, associada à perda ponderal de 10 kg em um mês e diminuição de débito urinário, com exames laboratoriais de rotina demonstrando acentuado aumento das escórias nitrogenadas. Exame físico pouco expressivo, com presença de edema em membros inferiores, sinal de caciço, 2+/4+, frio, mole e indolor, ascendendo até a região infrapatelar. Sinais e sintomas inespecíficos foram observados durante sua internação, porém pouco valorizados inicialmente. O estudo radiográfico do esqueleto (incluindo crânio, coluna, pelve, úmero e fêmur) não evidenciou alterações significativas. A tomografia computadorizada (TC) de abdome evidenciou lesões osteolíticas em corpos vertebrais e no osso ilíaco e aumento renal bilateral, sem dilatação do sistema coletor. O mielograma não foi diagnóstico, por conta da acentuada infiltração medular. O paciente foi submetido a aspirado e à biópsia de medula óssea, esta com o laudo de infiltração por plasmócitos e plasmoblastos (maior que 90%), confirmando o diagnóstico de MM. Iniciou quimioterapia, evoluindo com sepe e óbito. **Discussão:** O relato apresentado é de um caso de MM atípico, por conta de manifestações clínicas inespecíficas. O sintoma mais comum que leva à suspeita de MM é a dor óssea, pelas lesões osteolíticas, não sendo encontrada caracteristicamente, apesar de a TC evidenciar lesões osteolíticas em corpos vertebrais e osso ilíaco. A fratura patológica também não esteve presente (geralmente encontrada em 9,9%), assim como a hipercalemia também não foi encontrada (presente em 20% a 40%). A alteração da função renal, com níveis de escórias nitrogenadas dez vezes acima do normal, associada a aumento do volume renal foi um dos achados mais alarmantes, que levou à investigação diagnóstica, encontrando o MM como causa etiológica. A biópsia de medula óssea com plasmocitose maior que 10% confirmou MM, apesar de o mielograma não ter sido diagnóstico. **Conclusão:** Os casos de MM são, geralmente, de difícil elucidação. Desta forma, é importante ressaltar que a simples inclusão da eletroforese de proteínas e a avaliação da função renal, rotineira da população idosa, resultaria no diagnóstico precoce e no melhor prognóstico. O caso relatado evidencia que ainda há dificuldades com relação à doença, em consequência de a faixa etária acometida ser a população idosa, sendo os sintomas do MM muitas vezes associados aos de outras enfermidades comuns a essa população. O correto raciocínio clínico deve ser o mais valorizado na busca etiológica das doenças, já que os achados laboratoriais e imagiológicos podem ser inespecíficos nesses casos, nos quais o diagnóstico precoce pode ser determinante para o melhor desfecho da doença.

539. NÍVEIS SÉRICOS E URINÁRIOS DE CADEIAS LEVES LIVRES NAS DESORDENS PLASMOCITÁRIAS

Burin MM, Soares TB, Paiva MF, Spindler BM, Sarturi BF, Contin LCZ, Capra AM, Ottoni EL, Bittencourt RI, Daudt LE

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

A pesquisa de CLL sérica (CLLS) apresenta indicações específicas para diagnóstico e seguimento de desordens plasmocitárias, enquanto a pesquisa de CLL na urina (CLLU) ainda não tem indicações bem definidas, e alguns estudos mostram pouca relação com os níveis séricos. Na avaliação de CLLU, é considerada a relação κ/λ para descartar outras causas de proteinúria. Para avaliar o papel da CLLU, foram analisadas as pesquisas de CLL realizadas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre em 2013. A relação κ/λ foi considerada normal no sangue entre 0,26 a 1,65, e na urina, de 0,4 a 4,4. Foram 92 os pacientes que possuíam ambas as dosagens simultaneamente, sendo 46 do sexo masculino e 56 femininos, com idades entre 32 e 83 anos. Os diagnósticos: 79 mieloma múltiplo (MM), 10 amiloidose primária (AL), 10 plasmocitoma e 10 sem diagnóstico firmado de gamopatias. A principal indicação dos exames foi para seguimento. A concordância entre o nível sérico e urinário, após a exclusão de pacientes com relação κ/λ normal, foi de 72,8% para CLL κ e 83,6% para CLL λ . Cerca de 22% dos pacientes apresentaram somente CLLU κ positiva, e 10,8% dos pacientes apresentaram CLLU λ positiva, com CLLS negativa. Esse resultado pode corresponder a falsos positivos ou pode significar maior sensibilidade do teste urinário. O acompanhamento destes pacientes com demais testes para confirmar atividade da doença pode auxiliar

na determinação do papel da pesquisa de CLLU no acompanhamento das patologias plasmocitárias.

540. MOBILIZAÇÃO PARA TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOÉTICAS (TACTH): RETRATO DOS CASOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE DURANTE 15 ANOS

Contin LCZ, Spindler B, Sarturi B, Weber C, Paiva MF, Soares T, Burin M, Daudt LE, Bittencourt R

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: Terapia de altas doses e resgate com transplante autólogo de células-tronco hematopoéticas (TACTH) permanecem como componente fundamental do algoritmo terapêutico em mieloma múltiplo (MM). As instituições diferem quanto à conduta padrão de coleta de células-tronco. O uso de ciclofosfamida (ou outros regimes de quimioterapia) para citorredução permite coleta maior de células CD34 e pode prolongar tempo de internação quando comparado ao uso isolado de fator de estimulação de colônias de granulócitos (G-CSF). O uso de plerixafor mantém-se restrito a casos de falha a outros métodos de mobilização. **Objetivo:** Descrever os casos de TACTH realizados no período de 2002 a junho de 2014 no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) – RS e correlacionar com mobilização, dia de pega, número de células CD34 coletadas e sobrevida. **Material e métodos:** Estudo analítico observacional transversal realizado no HCPA, no período de 2002 a junho de 2014. Realizadas revisão retrospectiva de prontuários com registro dos dados em Excel 2010 e análise por teste do qui-quadrado, teste T e curva de Kaplan-Meier. **Resultados:** Analisados 372 casos: 53,4% pacientes masculinos, e 58,3% de casos de MM condicionados com esquema Melfalan-200. Do total, 338 casos (90,9%) foram mobilizados com G-CSF isoladamente, enquanto em 34 pacientes foram associados ciclofosfamida + G-CSF; em 20 casos, para aumentar resposta terapêutica, e em 14, por falha de coleta. Em relação ao número de células CD34 coletadas, a média foi $5,64 \times 10^6$ cel/kg para mobilização com G-CSF e $4,73 \times 10^6$ cél/kg para ciclofosfamida + G-CSF ($p = 0,133$). Em relação ao dia de pega (neutrófilos $> 5 \times 10^3/L$), a média do grupo G-CSF foi 13,7 dias, e no grupo ciclofosfamida + G-CSF, foi 13,9 dias, sem diferença estatística significativa. Não houve diferença estatística na sobrevida entre os dois grupos de mobilização estudados: mediana de sobrevida no grupo G-CSF isolado foi 31 meses (0-139 meses), e no grupo ciclofosfamida + G-CSF, foi 16 meses (0-143 meses). Apenas dois casos foram mobilizados com plerixafor, obtendo $4,1 \times 10^6$ e $5,6 \times 10^6$ cél/kg coletadas e dias de pega 11 e 12, respectivamente. **Conclusão:** A melhor estratégia de mobilização para coleta de células CD34 em TACTH é controversa. O número de células CD34 e o tempo de recuperação medular são semelhantes entre os grupos estudados, em concordância com a literatura.

541. RELATO DE CASO DE MIELOMA MÚLTIPLO COM APRESENTAÇÃO ATÍPICA

Zuppani LB, Daur EH, Rodrigues SDS, Neto OFD, Tabacof J, Jardini DP, Carvalhães FBF

Hospital Paulistano, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Mieloma é uma neoplasia multifocal de plasmócitos associada à produção de uma proteína monoclonal no soro e ou urina. Em muitos casos, eles estão disseminados, envolvendo a medula óssea. A doença tem muitas maneiras de se apresentar, de assintomática a formas agressivas e invasivas, com deposição anormal de cadeias de imunoglobulinas em tecidos. O diagnóstico é baseado na combinação dos aspectos citológicos, bioquímicos, radiológicos e fatores clínicos. **Objetivo:** O objetivo do presente relato é alertar para apresentações atípicas de mieloma que dificultam o diagnóstico. Neste caso, a dificuldade foi consequência da ausência de picos monoclonais na eletroforese de proteína, associada ao mielograma hipocelular com ausência de elementos típicos da patologia e presença de histiócitos e plasmócitos com inclusões citoplasmáticas. **Relato do Caso:** Paciente C.L.M.S., 38 anos, sexo feminino. Recebida no Hospital Paulistano com metrorragia e dor no quadril. Hemograma em 26 de novembro de 2013: hemoglobina 5,6 g/dL, plaquetas 86.000/mm³. Raio X: lesões líticas no quadril. Mielograma em 28 de novembro de 2013: hipocelularidade de todas as séries, presença de plasmócitos 1,6% que apresentam morfologia anômala e algumas células de aspecto histiocitário, com o citoplasma amplo com padrão lamelar. A figura nos mostra material laminar no citoplasma que se rompe, é liberado e fagocitado pelos macrófagos. Eletroforese de

proteínas sem alterações monoclonais. Imunofixação no soro em 14 de janeiro de 2014: presença de banda monoclonal kappa sem correspondência com cadeia pesada IgA, IgG e IgM. Imunofixação urinária 4 de dezembro de 2013: presença de banda monoclonal Kappa sem correspondência com cadeia pesada IgA, IgG e IgM. Biópsia óssea em 9 de dezembro de 2013, relatório da imuno-histoquímica: CD68 Clone PG-M1 positivo em numerosas células histiocitárias, com citoplasma de padrão lamelar. Kappa positivo na maioria das células plasmocitárias, com citoplasma amplo reticulado. CD 138, MI15, positivo em cerca de 40-50% das células. Imagens da tomografia por emissão de pósitrons (Pet-CT) apresentando lesões líticas hipermetabólicas. Hiper captação difusa de FDG no arcabouço ósseo, indicando a atividade medular. Imagens cedidas pela Pet-CT do Hospital Paulistano. **Conclusão:** As células plasmocitárias e histiocitárias apresentam citoplasma amplo e lamelar (cristaloides), correspondendo provavelmente a acúmulo de imunoglobulina no citoplasma. O perfil imuno-histoquímico, em conjunto com os achados morfológicos, Pet-CT, imunofixação sanguínea e urinária, é consistente com mieloma múltiplo de cadeia Kappa.

542. MIELOMA MÚLTIPLO – RELATO DE CASO

Balestrin IG^a, Syagha Y^a, Syagha E^a, Syagha H^b

^a Hospital Geral de Roraima (HGR), Boa Vista, RR, Brasil

^b Hospital Universitário Nilton Lins, Manaus, AM, Brasil

Introdução: Mieloma múltiplo é uma neoplasia de células plasmocitárias caracterizada por proliferação clonal anormal de plasmócitos na medula óssea, associada a disfunção orgânica. A faixa etária de incidência é extrema idade. A eletroforese de proteínas é pouco utilizada, sendo aos poucos substituída pela imunofixação, indicada para definir o tipo de proteína anormal, sendo útil para diagnóstico e diagnóstico diferencial. O mieloma múltiplo ainda é uma doença incurável, e o uso de drogas, tais como talidomida e o bortezomibe, além da introdução do transplante autólogo de medula óssea, tem mudado o curso da doença, melhorando a qualidade de vida dos pacientes portadores da doença. **Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi apresentar a importância da investigação precoce do mieloma múltiplo em pacientes jovens portadores de lesão óssea. **Descrição do caso:** Paciente do sexo feminino, 38 anos, branca, atendida no Pronto Atendimento do Hospital Geral de Roraima em dezembro 2013 com queixa de lombalgia e parestesia em membros inferiores há nove meses. Exame físico sem outras alterações. Realizou ressonância nuclear magnética (RNM) de coluna lombosacra, com presença de processo expansivo sólido ocupando sacro e estendendo para partes moles pré-sacrais de 14,8 x 10,0 x 8,8 cm, sem outras alterações. Internada para investigação clínica da lesão óssea. Exames iniciais com anemia normo/normo e PCR de 18.2 mg/dL. Biópsia da massa sacral compatível com mieloma plasmocítico. Eletroforese de proteína com pico monoclonal. Beta-2-microglobulina: 2.131,0 ng/mL. Imunofixação com predomínio IgG. Sem outras alterações. Estratificação de risco: IIIa (Durie-Salmon), ISS:II. Plano de tratamento com ciclos de CTD (ciclofosfamida, talidomida e dexametasona) seguidos de TMO autólogo. **Discussão e conclusão:** O mieloma múltiplo é uma neoplasia de plasmócitos caracterizado pelo comprometimento do esqueleto em diversos locais. Tumor primário comum do osso predominantemente em idosos. A imunofixação é o exame de eleição. É importante a busca das respostas de forma exaustiva, pois, muitas vezes, a patologia se apresenta de forma atípica. Portanto, alerta-se sobre a importância de se buscar uma etiologia mesmo que estes não se enquadram na incidência comum da patologia, pois muitos deles podem indicar doenças cujo diagnóstico pode alterar o prognóstico do paciente e, dessa forma, curar e tratar adequadamente.

Referências:

1. Durie BGM. Mieloma Múltiplo – Câncer da Medula Óssea. International Myeloma Foundation. 2002.
2. Kumar V, Abbas AK, Robbins FN, Cotran: Patologia – Bases Patológicas das Doenças. 7th ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005;1350-60.
3. Braunwald E, Kasper DL, Fauci AS, Jameson AL, Longo DL, Hauser S. Medicina Interna de Harrison. 18th ed. Porto Alegre: Artmed; 2013;(1)936-44.
4. Paula e Silva RO, Brandão KM, Pinto PV, Faria RM, Clementino NC, Silva CM, et al. Mieloma múltiplo: características clínicas e laboratoriais ao diagnóstico e estudo prognóstico. Rev Bras Hematol Hemoter. 2009;31(2):63-8.
5. Maiolino A, Solva C, Barros JC, Coelho E, Magalhães R, Bittencourt R, et al. Transplante de células-tronco hematopoéticas em gamopatias monoclonais. Rev Bras Hematol Hemoter. [online]. 2010;32(suppl 1)115-24.

543. MIELOMA MÚLTIPLO: AVALIAÇÃO DO PERFIL DOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS ENTRE 2011 E 2014 EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Cardoso CC, Rudolf-Oliveira RCM, Santos IM, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Introdução e objetivo: As neoplasias de células plasmocitárias são doenças prevalentes em idosos e são caracterizadas pela expansão de plasmócitos clonais na medula óssea. O mieloma múltiplo (MM) se destaca por ser a segunda neoplasia hematológica mais comum. Desde que o Hospital Universitário da UFSC (HU-UFSC) tomou-se referência para neoplasias hematológicas, o número de casos atendidos vem aumentando de forma considerável e, entre eles, destacam-se os casos de MM. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil dos pacientes com MM diagnosticados e tratados no HU-UFSC entre 2011 e 2014, a fim de aprofundar o conhecimento em relação a essa neoplasia. **Metodologia:** Os prontuários dos pacientes foram avaliados no Serviço de Agendamento Médico e Estatística, e os resultados de exames laboratoriais foram obtidos na Divisão de Análises Clínicas do HU/UFSC. Foram avaliadas as seguintes variáveis: idade, gênero, escolaridade, exames laboratoriais no momento do diagnóstico e perfil imunofenotípico dos plasmócitos. Este foi avaliado somente nos casos diagnosticados pela imunofenotipagem, utilizando o painel de oito cores. **Resultados:** Desde junho de 2011, foram diagnosticados 21 casos de MM no HU-UFSC. A idade dos pacientes variou de 41 a 93 anos, com uma idade mediana de 64 anos. Treze pacientes eram do gênero feminino, e oito do gênero masculino. Em relação ao grau de instrução, dez pacientes não completaram o 1º grau, três completaram o 1º grau, quatro, o 2º grau, e quatro completaram o nível superior. A concentração sérica de beta-2-microglobulina (B2M) variou de 4.434 a 33.275 ng/mL (VR: 609-2.164 ng/mL). A concentração sérica média da albumina foi de 2,5 ± 0,7 g/dL (VR: 3,4-5,0 g/dL), enquanto a concentração sérica de cálcio ionizável foi de 5,5 ± 1,3 mg/dL (VR: 4,0-5,4 mg/dL). Em relação à imunofenotipagem, quinze pacientes foram diagnosticados com o painel de quatro cores, e seis com o painel de oito cores. Nas amostras de aspirado de medula óssea desses seis pacientes, a porcentagem de plasmócitos variou de 2,4% a 51,5%. Foi observada, em cinco pacientes, a restrição de cadeia leve do tipo Igk, e, em apenas um, do tipo Igl. Os plasmócitos apresentaram expressão de CD38, CD138, CD56 e B2M; no entanto, não apresentaram expressão de CD19, CD20 e CD28. Houve variação na expressão dos marcadores CD45, CD27, CD117 e CD81. Os plasmócitos dos dois pacientes que expressaram CD117 também expressaram CD27, ambos marcadores relacionados a bom prognóstico. Três pacientes apresentaram expressão de CD81, o que foi recentemente relacionado a mau prognóstico. No momento do diagnóstico, os seis pacientes foram estratificados no sistema de estadiamento ISS III, o que indica uma possível demora na procura à assistência de saúde e, por isso, o diagnóstico foi realizado em uma fase mais avançada da neoplasia. **Conclusão:** Com o presente estudo, foi possível conhecer o perfil dos pacientes diagnosticados com MM no HU-UFSC nos últimos três anos. Além disso, foi constatado que a expressão de CD56 e a ausência do CD19 continuam sendo de grande importância para a definição do diagnóstico de MM. Em relação aos marcadores de bom e mau prognóstico, não foi possível estabelecer associação com a sobrevida dos pacientes, pois o painel de oito cores foi implantado recentemente e, assim, não houve um acompanhamento dos pacientes por mais que dois anos.

544. SILENCING OF HSP70 AND TRIAP1 GENES IN MULTIPLE MYELOMA CELL LINES INDUCES APOPTOSIS THROUGH APAF-1/CASPASE 9 PATHWAY: NEW POTENTIAL TARGETS ON THE WAY?

Alves VF^a, Zanatta D^b, Strauss B^b, Colleoni G^a

^a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^b Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP), São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Overexpression of HSP70 may provide a selective advantage for tumor cell survival due to its ability in inhibiting cell death via APAF-1 and Caspase 9. The TRIAP1 gene can modulate apoptotic pathways by interaction with HSP70. Some studies have shown that HSP70 gene silencing using antisense RNA induced cell death in breast cancer cell lines and was not toxic to normal breast epithelial cells or human fibroblasts. Although there are several studies on the role of HSP70 gene in apoptosis and drug resistance, there is a lack of information about this

gene in multiple myeloma (MM). **Objectives:** To analyze the importance of HSP70 and TRIAP1 as potential targets for MM therapy through: 1) silencing of HSP70 and TRIAP1 in MM cell lines; 2) evaluation of each gene silencing effect on cell cycle and apoptosis. **Methods:** Expression of TRIAP1 and HSP70 genes in MM cell lines was examined by quantitative real time PCR (qPCR). Cell lines were submitted to transduction with pLKO lentiviral vector containing short hairpin RNAs (shRNAs) for silencing the target genes (shRNAHSP70 and shRNATRIAP1). Lentiviral vectors with control sequences (*scramble*) were used to transduce the same cell lines. Apoptosis was assessed by flow cytometry after annexin V and propidium iodide (PI) staining. This study also evaluated APAF-1 and Caspase 9 gene expression by qPCR and Caspase 9 and Caspase 3/7 protein activity. **Results:** Cell lines RPMI8226 (normal P53 by FISH) and U266 (deletion of one allele of P53 by FISH) were chosen for the transduction experiments because they showed relevant expression of TRIAP1 and HSP70. The authors obtained silencing of TRIAP1 and HSP70 genes in both MM cell lines when the transduced cell lines were compared with shRNA-*scramble*. Silencing was confirmed by relative qPCR and Western blotting (for HSP70 only). Inhibition of TRIAP1 expression significantly increased the percentage of cells in late apoptosis ($p < 0.001$ for RPMI8226 and $p < 0.01$ for U266) one week after transduction, and it was accompanied by increased expression of Caspase 9 in both MM cell lines ($p < 0.001$ for RPMI8226 and $p < 0.05$ for U266 cell lines) when transduced cells were compared with the respective wild type. Furthermore, the inhibition of TRIAP1 resulted in accumulation of hypodiploid cells after 24 hours of transduction in the U266 cell line. Inhibition of HSP70 showed no significant changes in the cell cycle in both MM cell lines. However, the authors observed an increment in late apoptosis after inhibition of this gene in the two cell lines when the inhibited cells were compared with cells transduced with shRNA*scramble* one week after transduction ($p < 0.01$ for RPMI8226 and $p < 0.05$ for U266 cell lines) and the results were confirmed by increased activity of Caspase 3/7 ($p < 0.01$ for RPMI8226 and $p < 0.05$ for U266). A significant increase of Caspase 9 activity was observed when RPMI8226 was transduced with shRNAHSP70 ($p < 0.001$). **Conclusion:** Silencing of HSP70 and TRIAP1 in MM cell lines showed strong impact on the induction of late apoptosis, through the APAF-1/Caspase 9 pathway, suggesting that inhibitors of both genes could be exploited as potential targets for the treatment of MM, aiding patients regardless of the P53 status assessed by FISH, as suggested by previous studies in other types of cancer. **Funding:** FAPESP 2010/17668-6.

545. MULTIPLE MYELOMA BONE MARROW STROMAL CELLS HAVE DISTINCT GENE EXPRESSION PROFILE AND BECOME SENESCENT EARLIER THAN THEIR NORMAL COUNTERPARTS

Fernando RC^a, Carvalho F^a, Mazzotti DR^b, Evangelista AF^c, Alves VLF^a, Colleoni GWB^a

^a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^b Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa (AFIP), São Paulo, SP, Brazil

^c Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brazil

Background: A growing body of evidence suggests the key role of the tumor micro-environment (TME) in the maintenance and progression of various cancers, including multiple myeloma (MM). Apparently, MM bone marrow stromal cells (MM-BMSC) do not share the same genetic alterations present in clonal plasma cells, ruling out the hypothesis of a common progenitor. Some authors have demonstrated that MM-BMSC have an early cellular senescence profile, with significant alterations, which may contribute to disease progression and relapse. **Objectives:** To characterize possible differences in phenotype, culture behavior, and gene expression profile of MM-BMSC and BMSC from normal donors (ND-BMSC). **Methods:** Four new cases of MM without any prior treatment and four healthy BM donors for allogeneic transplant (not matched by age or gender) were studied. BM aspirates were collected and processed to separate BMSC (CD105+), using MACS methodology (Miltenyi Biotec). BMSC from both groups were expanded *in vitro* until reach the required amount of cells for RNA extraction and microarray analysis (GeneChip[®] Human Exon 1.0, Affymetrix). BMSC were also analyzed by flow cytometry and immunofluorescence, using anti-CD105 and anti-human vimentin (positive markers), and anti-CD45 and anti-human cytokeratin (negative markers). Preprocessing of microarray data and identification of differentially expressed genes were performed using the software Altanalyze with a fold-change, in module, of 1.5, and $p < 0.05$. The functional enrich-

ment analysis was performed using the software Enrichr. The functions of the genes in pathways and biological processes of interest were analyzed with the aid of Gene and GeneCards databases. **Results:** Morphological differences and changes in the proliferative capacity were observed - MM-BMSC could be cultivated up to sixth passage, while ND-BMSC up to twentieth passage. 50% of MM-BMSC failed to expand. On the other hand, all ND-BMSC were successfully expanded. However, no immunophenotypic differences were found between both cells. Gene expression analyses showed 216 genes differentially expressed between MM-BMSC and ND-BMSCs; 50 upregulated and 166 downregulated. The main biological processes and pathways that are deregulated in MM-BMSC are related to cell adhesion, cell migration, and modulation of immune system, representing the major mechanisms whereby MM-BMSC interact with clonal plasma cells. **Conclusion:** These findings suggest that MM-BMSC are different from ND-BMSC. The differences observed regarding the cell culture might be a result of early senescence process in MM-BMSC, since this phenomenon is associated with changes in cell morphology and cell division arrest. Preliminary analyses show that major pathways and biological processes that were differentially expressed in the two groups appear to be related, directly or indirectly, with the progression of MM (FAPESP 2010/17668-6).

546. CARACTERIZAÇÃO IMUNOFENOTÍPICA DE LÍQUIDO ASCÍTICO (POR CITOMETRIA DE FLUXO) EM PACIENTE COM DIAGNÓSTICO DE MIELOMA MÚLTIPLO

Carvalho AC, Barroso RS, Maciel FVR, Soares ACCV, Viana MA, Silva CA, Silva AF, Souza LB, Boas BV, Souto EX

Diagnósticos da América S.A. (DASA), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Caracterizar imunofenotipicamente as células observadas em um líquido ascítico de paciente com diagnóstico de mieloma múltiplo (MM). **Introdução:** O mieloma múltiplo é uma doença hematológica que representa 1 a 2% de todas as neoplasias e cerca de 10% das neoplasias hematológicas. Sua caracterização clássica é de proliferação clonal de plasmócitos na medula óssea, alterações líticas em ossos acompanhada de prejuízo na função renal e na hematopoiese e susceptibilidade a infecções. Os testes laboratoriais revelam presença de proteína monoclonal (paraproteína), geralmente IgG ou IgA, e restrição de uma cadeia leve, kappa ou lambda. A presença de ascite mielomatosa é um acontecimento raro nesta patologia, e estaria relacionada à infiltração do peritônio por células plasmáticas, com consequente irritação desta serosa e produção de líquido ascítico. Outro mecanismo seria acometimento hepático pelo mieloma e consequente hipertensão portal. A ascite pode aparecer logo no início da doença ou, mais comumente, no decorrer da enfermidade (médica de nove meses após o diagnóstico). Outras causas de ascite em pacientes com MM: infecciosas (incluindo tuberculose), insuficiência cardíaca, síndrome nefrótica e amiloidose sistêmica, entre outras. **Casística e resultados:** Em nosso Laboratório de Citometria de Fluxo, recebemos para análise um líquido ascítico de uma paciente de 75 anos com diagnóstico de mieloma múltiplo. Contagem global de células nucleadas: 4.700/mm³. Na análise morfológica, observou-se a presença de 75% de células plasmocitárias anômalas. Foram realizadas marcação com anticorpos monoclonais e leitura em citômetro de fluxo, evidenciando 73,9% de plasmócitos anômalos com o seguinte imunofenótipo: CD19-, CD38+, CD45+, CD56+, CD138+ e monoclonais Kappa. A perda de expressão do marcador CD19 e ganho do CD56 são observações frequentes nos plasmócitos nesta patologia, bem como a restrição clonal de uma das cadeias leves. **Conclusão:** O presente relato de caso ressalta a raridade desta apresentação clínica no MM e demonstra uma ferramenta a mais (citometria de fluxo) na caracterização neoplásica das células plasmocitárias.

547. CARFILZOMIB (30-MINUTE INFUSION) WITH AND WITHOUT DEXAMETHASONE (DEX) IN PATIENTS WITH RELAPSED AND/OR REFRACTORY MULTIPLE MYELOMA (MM): RESULTS FROM THE PHASE 1B STUDY, PX-171-007 (NCT00531284)

Papadopoulos K^a, Siegel D^b, Vesole D^b, Lee P^c, Zojwalla N^d, Lee JR^d, Badros A^e

^a South Texas Accelerated Research Therapeutics, San Antonio, United States

^b John Theurer Cancer Center at Hackensack University Medical Center, Hackensack, United States

^c Tower Cancer Research Foundation, Los Angeles, United States

^d Onyx Pharmaceuticals, Inc., San Francisco, United States

^e Greenebaum Cancer Center, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, United States

Objectives: In the United States, carfilzomib (CFZ) (starting dose: 20 mg/m²; target dose: 27 mg/m²; 2–10 min infusion) is approved in patients with relapsed and refractory MM. In this phase 1b dose-escalation study (PX-171-007), the safety, tolerability, and efficacy of CFZ (30-min infusion) ± low-dose DEX was evaluated in patients with relapsed and/or refractory MM. The primary objectives were to determine the maximum tolerated dose (MTD) of CFZ and to evaluate the safety and tolerability of CFZ ± DEX in patients with relapsed and/or refractory MM. **Methods:** CFZ was administered intravenously over 30 min on days 1, 2, 8, 9, 15, and 16 of a 28-day cycle. During the dose-escalation portion of the study, CFZ (20 mg/m²) was administered on days 1–2 of cycle 1, followed by dose-escalation to 36, 45, 56, or 70 mg/m². Additionally, CFZ (45 or 56 mg/m²) was combined with low-dose DEX (40 mg/week). Safety assessments were evaluated according to Common Terminology Criteria for Adverse Events (AEs) v3.0; responses were determined according to International Myeloma Working Group criteria. **Results:** In patients (n = 33) treated with single-agent CFZ, two dose-limiting toxicities were observed in the 70 mg/m² dosing cohort (renal tubular necrosis and proteinuria; both grade 3). The MTD of CFZ was 56 mg/m². Seven patients (21.2%) discontinued treatment due to an AE; all were from the 56 mg/m² cohort. Eleven patients (33.3%; including five [20.8%] in the 56 mg/m² cohort) required dose reductions due to an AE. Nausea and fatigue (51.5%; n = 17 each) and pyrexia (42.4%; n = 14) were the most common treatment-related AEs. Treatment-related hypertension occurred in four patients (12.1%); three were in the 56 mg/m² cohort. One patient (4.2%) in the 56-mg/m² cohort had treatment-related cardiac failure. The most common grade ≥ 3 treatment-emergent AEs (TEAEs) included thrombocytopenia (39.4%; n = 13), anemia (24.2%; n = 8), and hypertension (12.1%; n = 4). There was one death within 30 days of completing treatment (not attributable to CFZ). In patients who received 56 mg/m² CFZ (n = 24), the overall response rate (ORR) was 50.0%, including one patient (4.2%) with a stringent complete response (sCR), four (16.7%) with a very good partial response (VGPR), and seven (29.2%) with a partial response (PR). An additional 22 patients received CFZ (45 or 56 mg/m²) and low-dose DEX; one (4.5%) discontinued treatment due to an AE, and one (4.5%) required dose reductions due to an AE. The most common treatment-related AEs were thrombocytopenia and fatigue (40.9%; n = 9 each) and anemia (27.3%; n = 6). Treatment-related hypertension occurred in five patients (22.7%); two in the 56 mg/m² cohort and three in the 45 mg/m² cohort. Thrombocytopenia (36.4%; n = 8), anemia (27.3%; n = 6), lymphopenia (22.7%; n = 5), and hypertension (13.6%; n = 3) were the most common grade ≥ 3 TEAEs. In the 22 patients who received CFZ (45 or 56 mg/m²) and low-dose DEX, the ORR was 54.5%, including one patient (4.5%) with an sCR, five (22.7%) with a VGPR, and six (27.3%) with a PR. **Conclusions:** CFZ (up to 56 mg/m²; 30-min infusion) ± low-dose DEX was well tolerated and demonstrated efficacy in patients with relapsed and/or refractory MM. CFZ and low-dose DEX is being compared with bortezomib and low-dose DEX in patients with relapsed MM in the randomized phase 3 study ENDEAVOR (NCT01568866).

548. ESTADIAMENTO DE PACIENTES COM MIELOMA MÚLTIPLO: COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE CLASSIFICAÇÃO MAIS UTILIZADOS

Andrade SF, Soares PB, Pereira KN, Doleski PH, Silva JEP

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia hematológica caracterizada pelo acúmulo de plasmócitos monoclonais na medula óssea, pela presença de imunoglobulina monoclonal no soro e/ou urina, lesões ósseas, doença renal e imunodeficiência. A idade média de diagnóstico é de 65 anos, e a sobrevida dos pacientes varia de alguns meses até mais de uma década. MM ainda é uma doença incurável; porém, nos últimos anos, com a introdução do transplante de células-tronco autólogas e da disponibilidade de novos fármacos, a sobrevida global foi estendida. Após a confirmação do diagnóstico, o paciente deve ser avaliado quanto ao prognóstico. O sistema de estadiamento clínico proposto por Durie e Salmon (1975) ainda é amplamente utilizado, por fornecer correlação direta com características clínicas individuais de cada paciente. Esse método baseia-se na combinação de fatores (hemoglobina, cálcio sérico, componente

monoclonal, acometimento ósseo e creatinina sérica) que se correlacionam à massa tumoral, fornecendo 3 estádios (I, II e III) subclassificados em A e B conforme valor da creatinina. Estudos recentes mostram que esse sistema não é capaz de relacionar adequadamente a sobrevida global ao tempo livre de doença; portanto, novos parâmetros foram desenvolvidos para melhor correlação clínica e estratificação de subgrupos. Em 2005, foi proposta uma nova classificação, o Sistema Internacional de Estadiamento (ISS), baseado em dosagens de β2 microglobulina e albumina sérica, um sistema simples e confiável. O objetivo desse trabalho foi analisar as características laboratoriais e clínicas de 35 pacientes com mieloma múltiplo que consultaram no período de agosto de 2013 a agosto de 2014 no serviço de Hemato-Oncologia do Hospital Universitário de Santa Maria, na Universidade Federal de Santa Maria. A partir desses dados, os pacientes foram estadiados conforme critérios de Durie-Salmon e pelo ISS. Também foram analisados dados referentes à realização de transplante de medula óssea (TMO) e morte. Dos 35 pacientes analisados, 14 eram do sexo masculino (40%) e 21, do sexo feminino (60%), com média de idade de 62,5 anos (variando de 38–87); 12 deles já se submeteram ao TMO (34,3%) e quatro (11,43%) morreram nesse intervalo de tempo. Conforme a classificação Durie-Salmon, 18 pacientes estavam no estágio IA (51,44%), um no estágio IB (2,85%), 12 no estágio IIA (34,28%), quatro no estágio IIB (11,43%) e nenhum no estágio III da doença. Já quando avaliados pelo ISS, seis pacientes classificados no IA passaram para II, o paciente IB passou para II, quatro pacientes IIA passaram para III e três pacientes IIB passaram para III. Sabendo-se que pacientes em estágio I têm doença indolente e pacientes com estádios II e III têm mieloma ativo, a reclassificação desses pacientes no sistema ISS pode mudar o perfil de tratamento e condutas médicas. Conforme o estadiamento Durie-Salmon, 16 pacientes (45,7%) estavam com mieloma ativo, e, no estadiamento ISS, eram 65,7% (23 pacientes). Dos 12 pacientes que realizaram TMO, seis estavam no estágio I e seis no estágio II, conforme ISS. Dos pacientes que morreram, dois estavam no estágio III (ISS). Sendo o mieloma ainda uma doença incurável, a maioria dos pacientes irá recidivar. Na maioria dos casos, o objetivo terapêutico será controlar a doença, melhorar os sintomas e a qualidade de vida, e, quanto mais rápida a terapia for instituída no mieloma ativo (conforme o estágio), melhores serão os resultados.

549. PLASMOCITOMAS COM COMPRESSÃO DE SISTEMA NERVOUSO CENTRAL E FRATURAS MÚLTIPLAS – RELATO DE CASO

Almeida MNCS, Madeira PNM, Barros MPB, Oliveira HM, Costa AL, Muzzi GC, Lodi FM

Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG, Brasil

D.T.S., 70 anos, feminino, diabética, insulino-dependente, iniciou em maio de 2013 quadro de dores ósseas, fraqueza e emagrecimento. Em dezembro de 2013, notou nodulações palpáveis em crânio e esterno. Tomografia computadorizada (TC) de crânio e tórax mostraram grandes lesões expansivas sólidas e osteolíticas em crânio, esterno, coluna torácica, arcos costais e ossos longos de membros superiores e inferiores. Punção biópsia de lesão esternal, histologia e imunohistoquímica: plasmocitoma CD45 positivo, CD138 positivo, anti-CD56 positivo, ciclina D1 positivo e anti-Kappa (cadeia leve) positivo difuso. Eletroforese de proteínas do sangue e urina 24hr, ausência de pico monoclonal, imunofixação de urina de 24hr: proteína monoclonal Kappa isolada, cariótipo 46, XX [30], mielograma e biópsia de medula óssea sem infiltrações plasmocíticas. Diagnosticado mieloma múltiplo Kappa isolado com múltiplos plasmocitomas ósseos volumosos e áreas extensas de destruição óssea, sem infiltração difusa da medula óssea. Iniciado tratamento ambulatorial com CVD enquanto eram realizadas fixações cirúrgicas nas áreas críticas para fraturas; mesmo assim, paciente fraturou espontaneamente membros superiores e inferiores, totalizando cinco intervenções cirúrgicas ortopédicas de março a julho de 2014. Na quarta semana de tratamento com CVD, apresentou bexiga neurogênica (diabetes, plasmocitoma comprimindo canal medular e uso de bortezomibe) e aumento dos plasmocitomas de esterno e crânio. Mudou quimioterapia para CED (talidomida foi retirada do esquema pelo quadro de neuropatia diabética e bexiga neurogênica). Fez radioterapia na lesão em coluna torácica, apresentando melhora clínica e retorno de controle de esfíncter vesical. Antes do segundo ciclo de CED, apresentou afasia motora; ressonância nuclear magnética (RNM) de encéfalo mostrou aumento das lesões no crânio, com compressão principalmente do lobo temporal esquerdo e giro frontal inferior es-

querdo e edema no lobo frontal. Tratada com radioterapia de calota, com redução completa das lesões e retorno ao estado neurológico basal; concomitantemente, continuou tratamento quimioterápico, totalizando quatro ciclos de CED. Houve redução de todas as lesões mensuráveis, e a paciente encontra-se bem clinicamente. Esse caso ilustra um modo de apresentação atípica e grave do mieloma múltiplo, com boa resposta a poliquimioterapia, e as dificuldades com que o médico se depara no tratamento de pacientes idosos com comorbidades, sem indicação de transplante de medula óssea (TMO) e com contra-indicação a quimioterápicos tipicamente utilizados no tratamento de mieloma múltiplo.

550. ANKHD1 PROMOTES GROWTH OF MULTIPLE MYELOMA CELLS VIA REPRESSION OF P21

Dhyani A, Saad STO

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Centro de Hematologia e Hemoterapia de Campinas (HEMOCENTRO Campinas), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Background: ANKHD1, Ankyrin repeat, and KH domain-containing protein 1, are ubiquitously expressed in normal human tissues and have a varied and high expression in cancer, such as leukemia and myeloma. The authors' earlier studies showed that ANKHD1 plays important role in proliferation and cell cycle progression of multiple myeloma (MM) cells. In addition, ANKHD1 silencing reduces *in vitro* clonogenicity and *in vivo* tumorigenicity of MM cells. Furthermore, it was found that ANKHD1 silencing modulates expression of cell cycle related genes, including CDKN1A (P21), which was highly upregulated irrespective of the TP53 mutational status of MM cell lines. Hence, the present study aimed to investigate the role of ANKHD1 in P21 transcriptional regulation. **Methods:** The interaction of ANKHD1 with P21 was first examined by immunoprecipitation of cell lysates with anti-ANKHD1 antibody, followed by Western blot with antibody specific to P21. Further chromatin immunoprecipitation (ChIP) was conducted in order to study ANKHD1's binding to the p21 promoter region using an EZ-Magna ChIP™A kit (Millipore), according to the manufacturer's directions. Briefly, protein-chromatin complexes were immunoprecipitated with anti-ANKHD1 antibody or anti-rabbit isotype-matched immunoglobulin (IgG) as mock. The binding region of the P21 promoter was amplified by qPCR with the primer specific to P21 promoter region. Furthermore, P21 promoter reporter assay was performed by transfecting HEK293T with 100-300 ng per well of ANKHD1-pcDNA or pcDNA empty vector together with 100 ng per well of a construct containing the luciferase gene under the control of P21 promoter (P21/WAF1 promoter) and a Renilla luciferase reporter (20 ng per well). 24 hours later, the luciferase activity was quantified by using a commercially available kit (Dual-Glo-Luciferase Reporter Assay System; Promega – Madison, United States) with a Promega bioluminometer. **Results:** Immunoprecipitation followed by Western blot showed that a large quantity of P21 co-immunoprecipitated with ANKHD1, indicating formation of strong complex between these two proteins. Further chromatin immunoprecipitation (ChIP) showed enrichment of chromatin fragments (DNA) immunoprecipitated with ANKHD1 specific antibody greater (7-fold) than those immunoprecipitated with IgG (mock) antibody on amplification with P21 promoter region specific primer in qPCR. This suggests association of the ANKHD1 protein with the P21 promoter region. Furthermore, in the P21 promoter reporter assay it was found that the relative luciferase activity was significantly lower in HEK 293T cells transfected with ANKHD1-pcDNA as compared to the empty vector ($p < 0.05$). This decrease in luciferase activity demonstrates repression of P21 promoter activity by ANKHD1 and therefore suggests its role in P21 transcriptional regulation. **Conclusion:** ANKHD1 interacts with P21 promoter region and represses its activity, suggesting ANKHD1 to be a negative regulator of p21.

551. MIELOMA MÚLTIPLO: SINTOMAS E TRATAMENTO – UMA ABORDAGEM ATUAL

Alencar LCR^a, Marins JB^a, Santos NS^a, Santos TS^b, Ericeira MAL^a, Mendes MVG^a, Nóbrega IBAC^a, Dumont SVR^a, Abreu KC^a, Nicolau DI^a

^a Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, MA, Brasil

^b Universidade Ceuma (UNICEUMA), São Luís, MA, Brasil

Introdução: Define-se mieloma múltiplo (MM) como uma doença maligna e incurável das células B, caracterizada pela proliferação de plasmócitos

secretadores de imunoglobulina monoclonal no sangue ou na urina. As manifestações clínicas surgem em decorrência de infiltração nos órgãos, principalmente nos ossos, de plasmócitos neoplásicos, de produção de imunoglobulinas em excesso e da supressão da imunidade humoral normal. Como consequência, observa-se anemia grave, lesão óssea, insuficiência renal e infecção recorrente. O melfalano tem sido o agente quimioterápico mais utilizado para o tratamento de MM. Para os pacientes com boas condições clínicas, a opção é o transplante autólogo da medula, e novas técnicas com esquemas de condicionamento não mieloablativos têm sido uma alternativa para pacientes com prognóstico desfavorável ou que recidivam após o transplante autólogo. **Objetivo geral:** Analisar os principais sintomas e os tratamentos empregados atualmente em pacientes acometidos por mieloma múltiplo. **Objetivos específicos:** Identificar os principais sinais e sintomas dos pacientes acometidos por MM. Conhecer diagnósticos e os tratamentos atuais empregados. **Metodologia:** Trata-se de um estudo feito por meio de uma revisão de literatura de artigos retirados das bases de dados SciELO, LILACS e MEDLINE, publicados no período de 2005 a 2014, que abordavam o tema mieloma múltiplo. Realizou-se a análise destes avaliando-se conceito, descrição dos sintomas mais relatados, diagnóstico clínico e os tratamentos mais utilizados na atualidade. **Resultados:** O diagnóstico de MM pode ser realizado quando no mínimo dois desses três critérios forem apresentados: lesões ósseas; presença sérica ou urinária de imunoglobulina monoclonal, e excesso de plasmócitos na medula. Os principais sintomas incluem: dor óssea, fraturas ou infecções ósseas, hipercalemia, insuficiência renal, síndrome da hiperviscosidade sanguínea e anemia. Alguns pacientes podem ser assintomáticos. O MM ainda é uma doença incurável. O objetivo principal do tratamento desta doença é aumentar a sobrevida e a qualidade de vida. A doença tem uma evolução progressiva, e a expectativa de vida é de 2,5 a 3 anos. Para o paciente sintomático, o tratamento deverá ser rapidamente instituído. A quimioterapia é o tratamento de escolha nos pacientes com mais de 70 anos ou nos mais jovens, para quem o transplante não é possível. O transplante autogênico de células-tronco periféricas geralmente é indicado para pacientes com menos de 65 anos e para aqueles resistentes à quimioterapia. O transplante heterogênico pode curar uma pequena fração dos pacientes, mas é limitado pelo pouco número de doadores compatíveis. A quimioterapia isolada é indicada para pacientes não candidatos a transplante; o agente mais utilizado é o melfalan, associado à prednisona. O avanço dos estudos citogenéticos da doença está permitindo que novas drogas sejam desenvolvidas e novas intervenções sejam utilizadas. Entre os exemplos de pesquisas mais atuais estão: uso de trióxido arsênico; inibidores da farnesiltransferase, e imunoterapia com vacinas antimieloma. **Conclusão:** Conclui-se que o mieloma múltiplo deve ser diagnosticado e tratado o mais rapidamente possível. Essa circunstância determina a taxa de sobrevida dos pacientes, variando de meses a anos. Apesar dos progressos no tratamento, o mieloma múltiplo ainda é uma doença incurável, sendo a qualidade de vida essencial para os pacientes.

552. AMILOIDOSE PRIMÁRIA (AL) – RELATO DE QUATRO CASOS E EXPERIÊNCIA PÓS-TCTH AUTÓLOGO

Dantas ELR^{a,b}, Carvalho LEM^{a,b}, Albuquerque LM^{a,b}, Silva FAC^{a,b}, Kaufman Ja^b, Duarte KS^{a,b}, Araújo BSGSP^{a,b}, Leitão JPV^{a,b}, Ribeiro RA^{a,b}, Duarte FB^{a,b}

^a Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: Amiloidose primária (AL) é a forma mais comum e mais grave das amiloidoses, caracterizada por depósitos de fibras amiloides, cujo precursor é a imunoglobulina de cadeia leve produzida por clones plasmocitários. Deve ser suspeitada em pacientes com mieloma múltiplo (MM) e gamopatia monoclonal de significado indeterminado (MGUS) que apresentem albuminúria, além de pacientes com síndrome nefrótica e insuficiência cardíaca, neuropatia periférica sem diabetes mellitus, hipertrofia de ventrículo esquerdo sem alterações eletrocardiográficas, púrpura e hepatomegalia, entre outras doenças. O diagnóstico é feito por meio da confirmação histopatológica em tecido com vermelho congo. Em seguida, deve-se, se possível, realizar a tipagem amiloide e detectar clone plasmocitário por meio de eletroforese de proteína, imunofixação, *free light chain* (FLC), biópsia de medula óssea, FISH e inventário ósseo. Prossegue-se com a avaliação de dano de órgão e estadiamento da doença com troponi-

na e NT-ProBNP. Nos pacientes com baixo risco (troponina < 0.06 ng/mL e NT-proBNP < 5000 ng/L), está indicado transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) autólogo com dose individualizada de melfalano; nos pacientes de risco intermediário (NT-proBNP < 8500 ng/L), quimioterapia combinada, e nos pacientes de alto risco (NT-proBNP > 8500 ng/L), quimioterapia combinada com regimes de dose atenuada. **Objetivo:** Relatar quatro casos de amiloidose primária do serviço de Hematologia/TMO do Hospital Universitário Walter Cantídio. **Material e métodos:** Análise retrospectiva de quatro casos, avaliando sexo, idade, sintomas iniciais, detecção de clone plasmocitário, tempo sintomas-diagnóstico e sintomas-tratamento, sobrevida global (OS) e sobrevida livre de progressão (PFS). **Resultados:** Dos quatro casos, todos eram mulheres, com idade média de 62,33 anos, com sintomas iniciais de letargia/fadiga e edema, e uma com ascite. O diagnóstico com vermelho congo foi em fígado, pele, coxim adiposo e rim. A média de porcentagem de plasmócitos na medula óssea foi de 5,5%, e pico monoclonal em eletroforese de proteínas foi de 0,72 g/dL. A imunofixação em duas pacientes foi IgG lambda, uma, IgG kappa, e uma, IgA lambda. Ao ecocardiograma transtorácico, observou-se aumento de átrio esquerdo em dois casos, e média de fração de ejeção de 64,25%. A troponina só foi realizada em um caso: 0,045, e o NT-proBNP, em outro caso, de 3230 ng/L. Todas as pacientes utilizaram protocolos quimioterápicos triplos que incluíam bortezomibe, em uma média de cinco ciclos. Duas foram a óbito por complicações infecciosas. Duas pacientes foram para TCTH autólogo, com condicionamento com melfalano; uma apresentou ausência de pico monoclonal e imunofixação negativa no D+100, e outra se encontra no D+28, ainda sem reavaliação. A OS foi de 8,18 meses, e a PFS, de 6,77 meses. **Conclusão:** Amiloidose é uma doença rara e grave, com acometimento de vários órgãos. Observamos, no nosso centro, boa resposta ao uso de inibidor de proteossoma e ao TCTH autólogo.

553. TRATAMENTO DA DOENÇA DE DEPÓSITO DE CADEIA LEVE IDIOPÁTICA: REMISSÃO COMPLETA COM BORTEZOMIBE E DEXAMETASONA

Filho JTDS, Monteiro JMG, Andrade IB

Faculdade de Medicina de Campos (FMC), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

A doença de depósito de cadeia leve (DDCL) é uma entidade clínica rara, caracterizada pela deposição de cadeias leves das imunoglobulinas em diversos tecidos, acometendo principalmente os rins, seguido de coração e fígado. Manifesta-se frequentemente por meio de síndrome nefrótica com proteinúria marcante e deteriorização rápida da função renal. Mais de 50% dos casos são secundários ao mieloma múltiplo ou outra doença linfoproliferativa, tendo seu tratamento bem estabelecido voltado para o controle da doença de base. Entretanto, nos infrequentes casos onde não há detecção de uma doença hematológica associada, denominados de doença de depósito de cadeia leve idiopática, não há um consenso sobre sua abordagem terapêutica, tendo sua conduta baseada na experiência de casos relatados. Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo descrever o relato de caso um paciente de 55 anos com DDCL idiopática, apresentando acometimento renal com síndrome nefrótica, insuficiência renal aguda, hipertensão arterial e anemia. Foram excluídos os diagnósticos de mieloma múltiplo e amiloidose por meio de biópsia de medula óssea, biópsia de gordura abdominal e biópsia renal, sendo nesta última detectada a presença de glomerulopatia nodular com depósito de cadeia leve kappa. Recebeu tratamento com bortezomibe e dexametasona, com normalização da função renal, suspensão de anti-hipertensivos e negatização da proteinúria. Atualmente, encontra-se em acompanhamento, assintomático, após dois anos do término do tratamento. Concluímos que o tratamento com bortezomibe e dexametasona mostrou-se viável e eficaz no tratamento da doença de depósito de cadeia leve idiopática, com resposta rápida e duradoura na redução da proteinúria e melhora da função renal.

554. ABDOMINAL PAIN REVEALING PRIMARY PLASMA CELL LEUKEMIA

Santos JDRD^a, Magalhães AG^b, Silva JF^b, Silva AP^c, Pires CWBC^d, Machado C^e, Brandão RA^f, Medeiros PL^g, Vieira JRC^h, Leite LAC^h

^a Pós-graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^b Graduação em Biomedicina, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^c Unidade de Laboratório (ULAB), Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^d Departamento de Hematologia, Centro de Ciências de Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

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

^f Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), Recife, PE, Brazil

^g Departamento de Histologia e Embriologia, Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^h Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

Plasma cell leukemia is an aggressive and rare neoplasm disorder characterized by a high level of plasma cell circulating in peripheral blood. We reported a case in which the patient presented weakness, recurrent bone and abdominal pain and weight loss. A high number of plasma cells ($41.2 \times 10^9/L$) was visualized on the blood smear examination. Immunophenotype by flow cytometry showed CD138, CD38, CD45; cytoplasmatic IgM and lambda were positive and CD56, CD19, CD20, CD10, CD15, CD23, CD25, CD117 were negative. Electrophoresis showed component IgG 5,810 mg/dL, and the diagnosis of primary plasma cell leukemia associated with chronic liver disease and liver dysfunction was performed. Chemotherapy was applied, and the patient presented a good response with bortezomib. The prognosis of primary plasma cell leukemia remains unfavorable, mainly when associated with other diseases; however, the early diagnosis could provide a better choice of treatment and increase the survival of patients with plasma cell leukemia. **Keywords:** Plasma cell leukemia; abdominal pain; immunophenotype; prognosis.

555. COMPARISON OF KAPPA & LAMBDA FREELITE TO TOTAL KAPPA & LAMBDA IMMUNOASSAYS FOR THE DETECTION OF MONOCLONAL GAMMOPATHIES, BOTH AS STANDALONE TESTS AND ALONGSIDE SERUM PROTEIN ELECTROPHORESIS

Hungria VTM^a, Kampanis P^b, Drayson MT^c, Plant T^c, Crusoe E^a, Peres AL^a, Cury P^a, Sampaio M^a, Soares E^d, Harding S^b

^a Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FCMSCSP), São Paulo, SP, Brazil

^b The Binding Site Group, Birmingham, United Kingdom

^c Department of Immunity and Infection, University of Birmingham, Birmingham, United Kingdom

^d The Binding Site Brazil, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Monoclonal gammopathies are a disparate group of diseases, from benign to malignant, which are characterized by the proliferation of a single B cell clone that produces a homogeneous monoclonal immunoglobulin (M-Ig). The method of detection and quantification of the M-Ig depends upon whether it is an intact immunoglobulin or present only as serum free light chain. Historically, serum (SPEP) and urine (UPEP) electrophoresis were considered the gold standard for identifying intact M-Ig and FLC, respectively. In 2001, the introduction of the Freelite test changed the diagnostic and monitoring paradigm. The assay is now recommended as a tool to diagnose and monitor patients with B cell disorders. However, the assay is sometimes confused with monospecific immunoassays for measuring total kappa and total lambda. The present study compared kappa & lambda Freelite with total kappa & lambda immunoassays alongside SPEP as tools to identify patients with monoclonal gammopathies. **Materials and methods:** Sera from 102 blood donors (55 males and 47 females, age range 18-67 years) and 103 patients with light chain associated gammopathies (44 males and 59 females, age range 38 to 88 years, 60 kappa/43 lambda) taken during the course of their treatment were available. The sera was analyzed retrospectively with Freelite™ (The Binding Site Ltd – Birmingham, United Kingdom) on a SPA^{PLUS} and Total Kappa & Lambda nephelometric assays (Beckman Coulter, United States) on an Immage. Monoclonality was identified by results falling outside of manufacturers normal ratio ranges (Freelite: 0.256-1.65, Total light chain: 1.53-3.29). Serum protein electrophoresis was performed, and unexpectedly positive or negative results were assessed using immunofixation on the Hydrasys electrophoretic system (Sebia, France). **Results:** Monoclonal production was

identified in 80/103 light chain associated gammopathies by Freelite; negative IFE confirmed the absence of monoclonal protein in 22/23 patients with normal FLC kappa/lambda ratios and 1/23 patients had an IgG lambda intact immunoglobulin. SPEP was positive in 30/103 patients, with total kappa/lambda immunoassays detecting monoclonal protein in just 26/103 samples. Freelite was positive in 6/102, SPEP in 2/102, and total kappa/lambda in 8/102 normal blood donor sera. Interestingly, one patient with an abnormal FLC ratio and total kappa/lambda result had a lambda light chain identified using IFE. Comparisons between the performances of Freelite, Freelite + SPEP, Total kappa/lambda, and total kappa/lambda + SPEP are shown in table 1. **Conclusion:** In keeping with Kyle et al. (1999) this study confirms the limitations of total kappa/lambda assays as tools to identify M-Ig. This is the first study looking to apply the recommended algorithm of Freelite + SPEP to the total kappa/lambda assays. The addition of SPEP to total kappa/lambda assays improved the performance to detect abnormalities, but even combined they were neither as sensitive, specific, or accurate as the Freelite assay. Given the limitations of the total light chain assays identified in this study, it is important that physicians are aware of which assay is being utilized; one easy method to discriminate would be to observe the normal range of the assay being reported.

556. POLINEUROPATIA EM POEMS: BOA RESPOSTA COM CTD

Maciel JFR^a, Carvalho JS^b, Bezerra ABS^a, Castro MG^b, Aquino NL^b, Gomes KD^b, Abreu GCS^b, Xavier CRS^b

^a Liga Norte Riograndense Contra o Câncer, Natal, RN, Brasil

^b Universidade Potiguar (UnP), Natal, RN, Brasil

Introdução: A síndrome de POEMS é uma doença rara, caracterizada por polineuropatia periférica (P), organomegalia (O), endocrinopatia (E), desordem monoclonal de plasmócitos (M) e alterações de pele (S). É mais prevalente em homens, entre 50 e 60 anos de idade. Descrevemos neste relato um paciente portador da síndrome de POEMS com polineuropatia de evolução inexorável, que obteve melhora ao tratamento com ciclofosfamida, talidomida, dexametasona (CTD) e transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH-auto). **Relato de caso:** Paciente, sexo masculino, 48 anos, com quadro de polineuropatia periférica refratária ao tratamento com corticoide e imunoglobulina intravenosa, diagnosticado pelo serviço e encaminhado para a Hematologia com eritrocitose. Durante a investigação, foram encontrados pico monoclonal por IgA lambda, hepatoesplenomegalia, hipogonadismo, baqueteamento digital e alterações cutâneas, como hipertricose e pleora facial, configurando a síndrome de POEMS. Em virtude do diagnóstico, foi iniciado tratamento com CTD, mantido por nove meses, obtendo estabilização do quadro neurológico. Durante a terapia, o paciente apresentou um episódio de acidente vascular isquêmico (AVEi). Posteriormente, foi submetido ao TCTH-auto, realizado com sucesso. Evoluiu com melhora neurológica e hematológica e desaparecimento do pico monoclonal. **Discussão:** O relato trata de um paciente em investigação de polineuropatia periférica que apresentou leucocitose e trombocitose. Inicialmente, suspeito-se de doença mieloproliferativa crônica; no entanto, como não possuía mutação JAK2V617F e não havia uma relação causal com o quadro neurológico, tentou-se pesquisar outros diagnósticos, como a síndrome de POEMS. O paciente apresentou os critérios maiores obrigatórios para essa patologia, que são a polineuropatia periférica e a desordem monoclonal de plasmócitos, e os critérios menores, como organomegalia, endocrinopatia, alterações cutâneas, policitemia e trombocitose. Foi realizado tratamento com CTD, graças à facilidade de acesso à medicação pelo SUS, e programado TCTH-auto. Durante o tratamento, o paciente teve um episódio de AVEi, apesar de estar em uso de ácido acetilsalicílico (AAS); porém, não houve sequelas importantes. Sabe-se, ainda, que a associação de talidomida à dexametasona pode aumentar o risco trombótico. Posteriormente, o paciente realizou o TCTH-auto, usando como terapia de condicionamento o melfalano 140mg. Com base em dados retrospectivos, aproximadamente 40% dos pacientes com síndrome de POEMS respondem ao melfalano. Além disso, mais de um terço dos portadores de POEMS desenvolvem complicações após TCTH-auto. No entanto, não foi evidenciada nenhuma complicação à terapêutica instituída neste caso. A síndrome de POEMS é uma entidade rara, sem tratamento padronizado, e obtivemos sucesso com o esquema terapêutico de CTD e TCTH-auto.

557. AVANÇOS TÉCNICOS NO DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DE DOENÇA DE CÉLULAS PLASMOCITÁRIAS POR CITOMETRIA DE FLUXO

Bacal NS^{a,b,c}, Bento LC^a, Correia RP^a, Nozawa ST^a, Bortolucci ACA^a, Schimidell D^a, Vaz AC^a, Alexandre AM^a, Perin FS^a, Guerra JCC^{a,b,c}, Mendes CEA^{a,b}

^a Laboratório de Citometria de Fluxo, Laboratório Clínico, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

^b Laboratório de Hematologia, Laboratório Clínico, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

^c Laboratório de Hematologia, Centro de Hematologia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Os plasmócitos são células originárias da diferenciação terminal dos linfócitos B, especializadas na produção de anticorpos. Nos distúrbios de células plasmocitárias (DCP), o clone de plasmócitos se expande descontroladamente, produzindo anticorpos monoclonais anormais e proteína M, que afetam rins e ossos e comprometem o funcionamento normal da medula óssea (MO). Entre os distúrbios de células plasmocitárias, a gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI) e o mieloma múltiplo (MM) são os mais frequentes. A citometria de fluxo (CF) tem sido utilizada como ferramenta no auxílio diagnóstico, prognóstico e monitoramento das discrasias de células plasmocitárias (DCP). O objetivo desse trabalho é relatar avanços técnicos nas novas metodologias e marcadores imunofenotípicos e o ganho de sensibilidade e precisão no diagnóstico e acompanhamento desses pacientes. **Materiais, métodos e resultados:** Entre janeiro de 2011 e junho de 2014, nosso serviço analisou 718 amostras de MO com suspeita clínica de DCP, sendo 27,4% (197/718) de casos não onco-hematológicos e 72,6% (521/718) de casos patológicos. De 2011 a 2013, a investigação do clone plasmocitário era realizada por meio dos marcadores antigênicos CD138, CD38, CD56, CD19, CD20, CD33, CD117, CD45 e HLA-DR, e a caracterização de clonalidade de cadeias leve e pesada. As aquisições e análises eram realizadas por meio dos citômetros de fluxo EPICS XL-MCL e Cytomics FC500 (BeckmanCoulter). A partir de 2014, passamos a utilizar novos painéis, com marcadores imunofenotípicos de um protocolo com apenas dois tubos, oito cores e 11 parâmetros, de acordo com as recomendações do Grupo Euroflow. O equipamento BDFACScanTM e o **software** Infinicyt estão sendo utilizados para aquisição e análise, respectivamente. **Discussão:** A citometria de fluxo tem sido utilizada como importante ferramenta no auxílio diagnóstico, prognóstico e monitoramento de DCP. Com o advento de novas metodologias e avanços no conhecimento técnico-científico, atualmente se pode otimizar os quesitos de marcadores imunofenotípicos, procedimento técnico, análise, interpretação, identificação e diferenciação de plasmócitos normais e anormais, caracterização de prognóstico associado ao fenótipo, e maior sensibilidade na detecção de populações plasmocitárias em baixa frequência. Entre os avanços citados, a padronização da técnica, associada a novos marcadores com a identificação de clonalidade, permitiu resultados mais precisos no diagnóstico diferencial entre GMSI e MM, bem como na detecção de doença residual mínima (DRM). Para a pesquisa de DRM, as melhorias técnicas aplicadas com o intuito de aumentar a sensibilidade foram a aquisição mínima de um milhão de eventos, **cluster** de 50 a 100 eventos em células CD138*CD38* que seguem critérios de viabilidade em parâmetros de FSCxSSC, associação de fenótipo e clonalidade, e interpretação dos dados em conjunto com o fenótipo do diagnóstico e controles internos de população e da reação. **Conclusão:** A citometria de fluxo tem demonstrado ser ferramenta útil e rápida no auxílio ao diagnóstico de MM e outros distúrbios plasmocitários. Essas informações têm demonstrado ser precisas em relação ao prognóstico e de alta sensibilidade no monitoramento de DRM, o que pode auxiliar na previsão evolutiva da doença e escolha da melhor conduta terapêutica.

558. PLASMOCITOMA EM LINFONODO – RELATO DE CASO

Maio KT, Dutra VF, Costa LHS, Bellintani LM, Sá MB, Koury LCA, Clé DV, Chahud F, Simões BP

Divisão de Hematologia e Hemoterapia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: O plasmocitoma isolado representa menos de 5% das discrasias plasmocitárias, e caracteriza-se por achado isolado de tumor de plasmócitos monoclonais, ósseos ou extramedulares, sem acometimento

sistêmico que evidencie mieloma múltiplo. As localizações mais comuns são ossos, especialmente vértebras, e trato respiratório superior; porém, podem ocorrer em qualquer local. **Relato de caso:** J.H.M., 53 anos, masculino, iniciou acompanhamento no HC-FMRP-USP em novembro de 2013 por conta de dor em clavícula direita, associada a perda ponderal de 30 kg em dois meses e linfonodomegalia cervical bilateral há um ano. Raio X de clavícula evidenciou lesão osteolítica na extremidade distal da clavícula direita, de aspecto permeativo, com áreas de destruição da cortical. Realizada biópsia da lesão clavicular, com AP compatível com plasmocitoma bem diferenciado. Imuno-histoquímica: positivo difuso para CD138, positivo focal para lambda e negativo para CD56. Biópsia de linfonodo cervical posterior esquerdo revelou infiltração por plasmócitos, com positividade para CD138 e restrição para cadeia lambda, e negatividade para CD56, também compatível com plasmocitoma. Não havia plasmocitose ao mielograma, e, em biópsia de medula óssea, apenas infiltração moderada por plasmócitos de aspecto reacional, com padrão policlonal, CD138 positivo, CD56 negativo, e razão kappa/lambda 1 a 2:1. Outros exames: beta-2 microglobulina 1.773, eletroforese de proteínas com pico biclonal de 0,39 e 0,36 em região de gamaglobulinas, sem deficiência de globulinas, sem critérios laboratoriais para mieloma múltiplo e sem outras lesões ósseas nas radiografias de estadiamento. **Discussão:** A infiltração linfonodal por plasmocitoma é rara. O diagnóstico diferencial com linfoma plasmablastico é difícil, uma vez que tais linfomas são originados de células B maduras e podem expressar apenas marcadores plasmocitários à imuno-histoquímica. A deficiência de globulinas é o fator mais associado à progressão para mieloma múltiplo. O tratamento de escolha é radioterapia, com abordagem cirúrgica em alguns casos. O papel da quimioterapia ainda não é bem estabelecido e não modifica a taxa de progressão para mieloma múltiplo, mas poderia retardar o processo. Como a quimioterapia não inibe o surgimento de mieloma e está associada a toxicidade, principalmente se utilizada em conjunto com a radioterapia, não há benefício comprovado. Há diversos esquemas de quimioterapia disponíveis. No caso apresentado, optou-se por realizar ciclos de ciclofosfamida, dexametasona e talidomida em consequência do quadro de perda ponderal e disseminação bilateral.

559. PLASMOCITOMA SOLITÁRIO ÓSSEO EM FÊMUR E ÚMERO – RELATO DE CASO

Pita DFG^a, Carvalho NB^a, Júnior ALAI^a, Amorim KD^a, Dantas DI^a, Nóbrega EC^a, Lemos NDS^a, Macedo RT^a, Lima ARM^b, Botelho LFB^a

^a Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil

^b Instituto Cândida Vargas, João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: Plasmocitoma solitário ósseo é uma neoplasia de plasmócitos em graus variados de maturação, histologicamente idêntico ao mieloma múltiplo, mas o primeiro é caracterizado por apenas uma lesão óssea, sem comprometimento da medula óssea, como ocorre no segundo. O plasmocitoma solitário ósseo é mais comum em homens do que em mulheres, em uma proporção de 2:1. Ocorre comumente em idades mais avançadas, sendo raro antes dos 40 anos. O local mais acometido é o esqueleto axial, sendo o sintoma mais comum a dor. O diagnóstico é feito geralmente por meio de biópsia ou punção por agulha fina, sendo necessária uma extensa investigação para se excluir mieloma múltiplo. Essa investigação consiste em: hemograma, bioquímica incluindo eletrólitos e cálcio corrigido; níveis séricos de imunoglobulinas; eletroforese e imunofixação de proteínas séricas e urinárias; raios-X (cervical lateral e antero-posterior, coluna torácica e lombar, crânio, tórax, pelve, úmeros e fêmures); ressonância magnética (RM) de coluna torácica e lombar e aspirado de medula óssea. A maioria dos pacientes com plasmocitoma solitário ósseo desenvolvem mieloma múltiplo, sendo necessário acompanhamento. Alguns critérios prognósticos que predizem a evolução para mieloma múltiplo são: baixos níveis de imunoglobulinas não envolvidas, doença axial, idade avançada, tamanho da lesão maior que 5 cm e persistência da proteína M após o tratamento. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 50 anos, casada, do lar, natural e procedente de Sapé-PB. Procurou um serviço de Ortopedia, em novembro de 2012, por conta de fortes dores em membro inferior esquerdo, que impediam a deambulação. Realizou tomografia computadorizada (TC) de pelve que evidenciou lesão com densidade de partes moles, com efeito expansivo, acometendo fêmur proximal. Foi submetida à cirurgia de fixação da fratura e retirada da lesão para estudo anatomopatológico, que revelou plasmocitoma solitário ósseo, confirmado pela imuno-histoquímica. A paciente perdeu seguimento clínico, retornando ao serviço Onco-Hematológico

apenas em maio de 2014, com queixas de fortes dores em ombro esquerdo, com restrição dos movimentos e visível abaulamento local. Negava outras queixas. Nova TC revelou massa com densidade de partes moles com fratura associada de úmero. Submeteu-se a fixação da fratura e biópsia da lesão, apresentando novo plasmocitoma solitário ósseo. Realizou radiografia simples de ossos longos, mielograma, dosagem de imunoglobulinas, dosagem de B2, microglobulina e eletroforese de proteínas séricas, os quais estavam todos normais. Seguiu para tratamento radioterápico, ainda em andamento, com melhora significativa dos sintomas. **Discussão:** Os plasmocitomas solitários ósseos são tumores raros, sendo importante que seu diagnóstico seja feito precocemente, pois a maioria dos pacientes evolui para mieloma múltiplo em momentos distintos, podendo ocorrer inclusive após o tratamento adequado do plasmocitoma solitário ósseo, sendo esse também o motivo do acompanhamento do paciente após tratamento. O tratamento é feito com radioterapia local, englobando toda a extensão do tumor com uma margem de 2 cm, com dose de 40 Gy em 20 frações. Em alguns casos pode ser necessária cirurgia. Alguns autores aconselham a quimioterapia adjuvante em casos de tumores maiores que 5 cm. Por isso, é interessante que haja uma boa relação entre o hematologista, o cirurgião e o radioterapeuta, visando a adequar a melhor conduta para o paciente, melhorando seu prognóstico.

560. MIELOMA MÚLTIPLO COM PLASMOCITOMAS CUTÂNEOS SECUNDÁRIOS – RELATO DE CASO

Noriega LF^a, Bérigamo L^a, Matushita CM^a, Borducchi DMM^{a,b}, Pallotta R^a, Salgues ACR^a, Torres MIBF^a

^a Departamento de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brasil

^b Central Clinic, Santo André, SP, Brasil

Introdução: Este trabalho tem como objetivo descrever um caso de múltiplos plasmocitomas de couro cabeludo em paciente com mieloma múltiplo. **Relato de caso:** Foi estudada uma paciente de 50 anos, branca, feminina, com queixa de lombalgia e emagrecimento, exames com alteração significativa para fosfatase alcalina, cálcio, creatinina, ureia, hemoglobina e RDW, e lesões líticas lombossacrais. Exames subsequentes mostraram neoplasia plasmocitária e plasmocitoma anaplásico com restrição de cadeia leve lambda, sem pico monoclonal, levando ao diagnóstico de mieloma múltiplo secretor de cadeia leve lambda, estágio Durie e Salmon III A. Após cinco meses, evoluiu com paraplegia, em consequência da compressão medular a nível C5-C6-T1. Há quatro meses, relatou lesões eritematosas nodulares em couro cabeludo, endurecidas e com dor leve à digitocompressão, que revelaram ser lesões líticas esparsas com denso infiltrado de plasmócitos e hiperplasia nuclear dos mesmos, confirmando o diagnóstico de plasmocitoma cutâneo secundário. Depois de cinco meses, a paciente evoluiu para óbito. **Discussão:** O comprometimento cutâneo em pacientes com mieloma múltiplo costuma ocorrer em estágios tardios, associado a aumento da carga tumoral e prognóstico ruim, com poucos meses de sobrevida.

561. PLASMOCITOMA MAMÁRIO BILATERAL – RELATO DE CASO CLÍNICO

Fischer TRC, Natera CC, Higashi F, Peres ALM, Brasil SAB, Cruzeiro EQ, Chiattonne CS, Hungria VTM

Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Plasmocitomas extramedulares estão presentes em 7-19% dos pacientes ao diagnóstico de mieloma múltiplo (MM), e outros 6-20% ocorrem no curso da doença. O tecido mamário acometido por plasmocitoma é uma condição rara. Taylor *et al*, em 2006, descrevem 43 casos na literatura mundial. **Caso clínico:** Feminino, 52 anos, negra, natural e residente em São Paulo. Admitida com quadro de astenia, perda ponderal de 10 kg, dor em região torácica e vômito. Ao exame físico, apresentava dor à palpação da região torácica e nodulações mamárias bilaterais. Nos exames iniciais, observou-se Hb: 8,6; Leucócitos: 3.900; Plaquetas: 89 mil; Cr: 2,7; Ca 15,2. Inicialmente, foi realizado o controle da hipercalemia sintomática e, após, iniciada a investigação etiológica, sendo a neoplasia mamária a hipótese inicial. Os exames para investigar as lesões mamárias foram: mamografia, que evidenciou nódulos hiperdensos, com margens regulares e contornos lobulados, distribuídos bilateralmente, sendo o maior à direita de 15mm, BIRADS 0, e ul-

trassonografia, que demonstrou múltiplos nódulos sólidos, ovalados, contornos lobulados, com vascularização ao *doppler*, sendo o maior na junção dos quadrantes superiores da mama direita, onde foi realizada *core-biopsy*. O resultado, no entanto, descartou neoplasia primária da mama e evidenciou plasmocitoma mamário, com restrição da cadeia lambda, índice de plasmócitos de 95%, CD138+. Prosseguindo-se, então, com a investigação etiológica, o mieloma múltiplo foi considerado a principal hipótese. Realizou-se: eletroforese de proteína componente monoclonal: 4,18 mg/dL; imunofixação: IgA/ Kappa, e biópsia de medula óssea: plasmocitose medular 90%, CD138+, Lambda+. Concluiu-se, portanto, se tratar de mieloma múltiplo IgA/ Kappa, com plasmocitoma extramedular de localização mamário ISS: 3; Durie Salmon: IIB, e foi iniciada quimioterapia com ciclofosfamida, talidomida e dexametasona (plano terapêutico: quatro ciclos e altas doses de quimioterápico com resgate com células-tronco periféricas). **Discussão:** A investigação dos nódulos mamários e caracterização como plasmocitoma seguiu o protocolo para a investigação de massas mamárias suspeitas, com ultrassonografia, mamografia e *core-biopsy*. Os diagnósticos diferenciais mais importantes considerados foram o tumor primário epitelial de mama e as metástases. O plasmocitoma extramedular de localização mamária é uma condição infrequente, especialmente ao diagnóstico de MM, correspondendo apenas a 14% dos casos. A maioria (75%) ocorre em vigência de MM sintomático, já em acompanhamento. As características epidemiológicas do caso descrito estão de acordo com os da literatura, em relação ao sexo, idade e localização. A maior frequência dos plasmocitomas mamários ocorreu em mulheres, com média de idade de 53 anos e em ambas as mamas. O aspecto mamográfico desta paciente ratifica o encontrado na literatura, em que são descritas massas bem definidas e com margens irregulares. Por outro lado, o padrão ultrassonográfico é heterogêneo, havendo relatos de lesões hiperecóticas, hipoecóticas e anecoicas. No caso apresentado, observou-se a presença de plasmocitoma extramedular associado ao MM sintomático. Este dado correlaciona-se ao prognóstico e à evolução da paciente. Sabe-se que as manifestações extraósseas estão relacionadas a formas mais graves de MM, com rápida progressão, resistência ao tratamento e sobrevida média curta.

562. AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO TRATAMENTO E SUA RESPOSTA EM PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA MÚLTIPLO ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DE HEMATOLOGIA DA FCMS-PUCSP/CHS

Bressanin FG, Miralhes PB, Vecina AC, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia maligna incurável dos plasmócitos, caracterizada pela proliferação desregulada e clonal de um único tipo de imunoglobulina ou de fragmentos desta, sem a necessidade de estímulo antigênico na medula óssea. O tratamento deve ser instituído quando o paciente é sintomático. Aqueles pacientes com menos de 65-70 anos, com bom *performance status*, sem comorbidades e com função renal normal são potencialmente candidatos à consolidação com altas doses de quimioterapia, seguidas de transplante autólogo de medula óssea (TMO). Este projeto tem como objetivo analisar os dados referentes ao tratamento e sua resposta constantes nos prontuários dos pacientes portadores de MM no Ambulatório de Hematologia da FCMS-PUC-SP/CHS. Analisamos idade, sexo, estadiamento, tipos de tratamento, duração e a resposta. Avaliamos ao total 24 pacientes, sendo 16 (66,70%) e oito (33,30%), com média (M) de idade de 61 anos, com variação de 38 a 90 anos. Quanto ao estadiamento baseado em Durie & Salmon, dois pacientes não estavam estadiados; 13,64% encontravam-se no estágio I; 22,72% no estágio II, e 63,64% no estágio III (n = 22). Na subclassificação, 91% estavam no subestádio A. Apenas um paciente não iniciou o tratamento ao diagnóstico (4,2%). No 1º esquema terapêutico, nove (37,5%) pacientes utilizaram talidomida (Tal) e Dexametasona (Dexa) (TD); sete (29,16%) utilizaram ciclofosfamida, Tal e Dexa (CDT); três (12,5%) utilizaram melphalan, prednisona e Tal (MPT); dois (8,3%) utilizaram melphalan, Dexa e Tal (MDT); um (4,2%) utilizou Tal e prednisona (TP), e um (4,2%) utilizou apenas Dexa. Dos 24, 18 foram tratados com bifosfonatos (75%). A duração do tratamento foi de 2 a 31 meses, M = 10,4. Quanto à resposta a esse 1º esquema terapêutico, um (5,88%) apresentou resposta completa estrita (RS); três (17,64%) apresentaram

resposta completa (RC); sete (41,18%) apresentaram resposta parcial muito boa (RPMB); cinco (29,42%) apresentaram resposta parcial (RP), e um apresentou progressão da doença (5,88%), com n = 17. Dos pacientes tratados, 10 iniciaram uma 2ª terapia, sendo que o motivo da troca de nove desses foi: cinco por recidiva (55,56%) e quatro por toxicidade do tratamento anterior (44,4%). Para o 2º esquema terapêutico, três pacientes (30%) usaram CTD; um (10%) utilizou Dexa; um (10%) utilizou Tal; um (10%) utilizou TD; um (10%) utilizou MDT; um (10%) utilizou Tal e bortezomibe (Btz); um (10%) utilizou TD e Btz (10%), e um (10%) utilizou CDT e Btz (10%). Dos 10, oito foram tratados com bifosfonatos (80%). A duração do tratamento de seis dos pacientes foi de 5 a 24 meses, M = 14,2; com RS (16,67%), RC (33,3%), RP (16,67%) e progressão (33,3%). Destes, quatro iniciaram uma 3ª terapia, por recidiva (50%) ou por toxicidade (50%), composta por Tal (25% dos pacientes); Dexa e ciclofosfamida (25%); CDT (25%); TD e Btz (25%), com duração de 5 a 11 meses, M = 7. As respostas foram 25% RPMB, RP 25% e dois não possuem esse dado. Desta forma, 23 pacientes fizeram um tratamento (95,83%), 10 fizeram uma 2ª terapia (41,67%) e quatro fizeram uma 3ª terapia (12,50%). Dos 24 pacientes analisados, oito foram submetidos ao TMO (33,3%), quatro deles apresentando remissão (66,7%) e dois com recidiva (33,3%), n = 6. Podemos depreender dos dados analisados que as drogas mais usadas neste serviço são Tal e Dexa, seja separadas ou combinadas. A maioria dos pacientes responde com RPMB ao tratamento, e na mesma proporção são os que necessitam de um 2º esquema terapêutico, com duração maior, seja por recidiva ou por toxicidade ao tratamento anterior, muitas vezes utilizando o Btz.

563. AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS AO DIAGNÓSTICO EM PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA MÚLTIPLO ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DE HEMATOLOGIA DA FCMS-PUCSP/CHS

Bressanin FG, Miralhes PB, Vecina AC, Cliquet MG

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia de plasmócitos caracterizada pela proliferação clonal secretora de um único tipo de imunoglobulina (ou fragmentos desta), sem a necessidade de estímulo antigênico na medula óssea. A proteína aumentada, proteína M, pode ser detectada no soro e na urina. As manifestações clínicas incluem dor óssea, suscetibilidade a infecções, disfunções neurológicas e renais, complicações cardiovasculares, alterações na pele, plasmocitomas, manifestações hemorrágicas, trombozes e síndrome de hiperviscosidade. O prognóstico varia de acordo com o grau da doença, a adesão e a eficácia ao tratamento. A sobrevida também é variável. Realizamos o levantamento de dados de todos os prontuários de pacientes com o diagnóstico de mieloma múltiplo. Analisamos os dados demográficos, as manifestações clínicas, os parâmetros laboratoriais e as alterações radiológicas ao diagnóstico. Para a análise do prognóstico, utilizamos o estadiamento de Durie & Salmon. Avaliamos, ao total, 18 pacientes, sendo 11 homens (61,1%) e sete mulheres (38,9%), com média de idade de 63,3 anos (43 a 90). A respeito do quadro inicial: 81,25% apresentavam dor óssea; 37,5% fraqueza; 31,25% fraturas; 25% perda ponderal; 18,75% sintomas neurológicos; 12,5% esplenomegalia; 12,5% plasmocitomas; 6,25% sangramentos, e 56,25% outros sintomas. Ao diagnóstico, apresentaram anemia: 87,5%, média Hb = 10,27 g/dL (6,9 a 13,6 g/dL). Leucócitos abaixo de 4.000 cél/mm³ em apenas dois (12,5%), média de 6.717 cél/mm³ (3.900 a 10.300 cél/mm³). Plaquetas com média de 244.187 cél/mm³, com apenas um paciente com valores no limite inferior da normalidade. Cálcio plasmático abaixo do limite inferior em 42,86%, e acima do limite superior em 14,28%. Elevação da creatinina observada em 20% dos pacientes (> 1,3 mg/dL). β_2 -microglobulina aumentada (> 2,3 mg/mL) em 61,5%, com média de 3,48. Por fim, a albumina plasmática estava baixa (< 3,5 g/dL) em 50% dos pacientes, com média de 3,28. O tipo de imunoglobulina monoclonal foi IgG em 75% dos casos, IgA em 12,5% e IgM 12,5%, cadeia leve Kappa 31,25% e lambda 18,75%. Lesões ósseas: 11 (68,75%) apresentavam-se com lesões osteolíticas, sendo os principais locais afetados a coluna (62,5%), crânio (43,75%), braços (18,75%), quadril (18,75%) e fêmur (12,5%). Quanto ao estadiamento baseado em Durie & Salmon, estágio I = 12,5%, estágio II = 25%, estágio III = 50% e 75% em sub estágio A. Dois (12,5%) pacientes não foram estadiados ao diagnóstico. **Conclusão:** Observamos que o pico de incidência do mieloma múltiplo

está por volta dos 60 anos, de acordo com o encontrado na literatura. A incidência foi maior nos homens. Os sintomas mais frequentes estão relacionados ao sistema esquelético e à anemia. Não encontramos alterações relevantes nas séries branca e plaquetária. Ao contrário do esperado, encontramos mais hipocalcemia do que hipercalcemia, conforme descrito na literatura. A β 2-microglobulina estava aumentada na maioria dos pacientes, assim como a albumina estava baixa. A proteína monoclonal mais comum foi a IgG, seguida da IgA. Uma imensa parte dos pacientes chegou ao diagnóstico já com lesões osteolíticas, principalmente em coluna e crânio. O estadiamento, também à época do diagnóstico, já se encontra avançado na maioria das vezes.

564. DIAGNÓSTICO TARDIO DO MIELOMA MÚLTIPLO E O IMPACTO NA SOBREVIDA: UMA CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL

Farias DLC^a, Bastos FA^a, Amaral CAD^a, Tavares RS^a, Alcântara KC^b

^a Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

^b Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: O mieloma múltiplo (MM) é a segunda neoplasia hematológica mais frequente (10%). É uma neoplasia de plasmócitos, caracterizada por extensa infiltração da medula óssea, produção de imunoglobulina (Ig) monoclonal e disfunções associadas, como lesões ósseas, anemia, hipercalcemia e disfunção renal. Apesar de incurável, houve aumento significativo da sobrevida nas últimas décadas, pelo diagnóstico mais precoce e medidas terapêuticas mais eficazes. É importante o registro do perfil dos pacientes brasileiros, permitindo a elaboração de políticas de saúde visando a aprimorar o diagnóstico e o tratamento. **Objetivo:** Analisar o perfil clínico-laboratorial ao diagnóstico dos pacientes com MM atendidos no Ambulatório de Doenças Linfoproliferativas Crônicas do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC-UFG). **Metodologia:** Estudo retrospectivo e observacional conduzido no HC-UFG com pacientes admitidos entre janeiro de 2007 e agosto de 2013. Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-UFG. **Resultados:** Foram avaliados 88 pacientes, com mediana de idade de 61 anos (mulheres: 62 anos; homens: 59 anos). A maioria (65,9%) tinha menos de 65 anos e 53,4% eram do gênero masculino. 30% eram brancos, 61,2% pardos e 8,8% negros. Trabalhadores rurais aposentados: 19%. Estadiamento de Durie e Salmon (DS): 10,2% estágio I (10,2% I-A e nenhum caso I-B), 18,2% estágio II (17,1% II-A e 1,1% II-B) e 71,6% estágio III (36,4% III-A e 35,2% III-B). Estadiamento ISS: avaliável para 72 pacientes (81,8%), sendo 13,9% estágio I, 37,5% estágio II e 48,6% estágio III. IgG foi a Ig monoclonal mais frequente, 48,8%, (IgG kappa em 56,5%), seguida por 23,8% IgA, 21,4% com produção exclusiva de cadeias leves, 3,6% não secretor e 2,4% biclonal (IgG/IgA). Não detectou-se IgM, IgD ou IgE. A cadeia leve mais frequente foi lambda (72,2%). Não analisadas cadeias leves livres. Apresentaram anemia 63,6%, creatinina ≥ 2 g/dL 38,6%, hipercalcemia 24,7% e lesão óssea 76,5%. A insuficiência renal (IR) foi mais prevalente nos produtores exclusivos de cadeias leves: 68,4%, *versus* 30,4% nos demais pacientes ($p = 0,003$). O esquema de tratamento individualmente mais utilizado foi talidomida/dexametasona (48,8%). Cerca de 29,5% dos pacientes avaliados foram a óbito, sendo 47,8% nos três primeiros meses após o diagnóstico. Choque séptico foi a causa mais frequente (65,4%). **Discussão:** Similarmente a outros estudos brasileiros, a mediana de idade foi mais jovem e prevaleceu o diagnóstico com doença avançada. IR ao diagnóstico foi quase o dobro da frequência da literatura, que pode se justificar pelo diagnóstico tardio e predominância de cadeia leve lambda (72,2%, contra 20% da literatura), de pior prognóstico. Os esquemas de tratamento atuais empregam \geq três drogas, mas, por conta da presença de pacientes de diagnóstico mais antigo, talidomida/dexametasona foi o tratamento de primeira linha mais utilizado nesse grupo. O impacto do diagnóstico tardio também encontra-se nos óbitos precoces observados, com quase metade ocorrendo nos três primeiros meses após o diagnóstico. **Conclusão:** A maioria dos pacientes diagnosticados com MM no HC-UFG são mais jovens que a literatura e apresentam-se em estágio avançado, com elevada incidência de IR e de óbito precoce. Tais achados demonstram a importância de políticas de saúde que melhorem a precocidade do diagnóstico e tratamento desse grupo de pacientes.

HEMATOLOGIA PEDIÁTRICA

HEMATOLOGIA PEDIÁTRICA

565. IMMUNE IMBALANCE IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: POLYMORPHISMS OF TRANSCRIPTION FACTOR FOXP3 AND CIRCULATING TREG-ASSOCIATED CYTOKINES TGF-B1 AND IL-10

Oliveira CEC^a, Amarante MK^a, Perim AL^a, Guembarovski RL^a, Hiroki CH^a, Fujita TC^b, Ishibashi CM^b, Watanabe MAE^a

^a Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brazil

^b Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina, PR, Brazil

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common childhood malignancy and accounts for approximately 80% of leukemias in pediatric patients. Regardless of the unknown etiology and pathogenesis of ALL, a lack of immune stimuli during childhood has been related to leukemia susceptibility. Regulatory T cells (Tregs) may play a role in carcinogenesis, acting in the suppression of immune activation as critical mediators of homeostasis and self-tolerance, associated with tumor microenvironment. Their suppressive phenotypes are maintained by expression of the Forkhead box P3 (FOXP3) transcription factor and stimulatory cytokines, such as transforming growth factor beta (TGF-Beta) and interleukin 10 (IL-10). To investigate the role of FOXP3 and the imbalance of Treg-related cytokines in the pathogenesis of ALL, two promoter region polymorphisms of FOXP3 and plasma concentration of Treg-associated cytokines were evaluated in samples from childhood ALL patients and age-matched healthy controls among a southern Brazilian population. A case-control study was conducted involving 61 Brazilian children and adolescents with ALL and 73 cancer-free subjects. All subjects were genotyped for rs3761548 and rs2232365 FOXP3 polymorphisms using allele specific-polymerase chain reaction (AS-PCR) assay. ELISA protocols were performed for determination of TGF-B1 and IL-10 in plasma. There was no association between alleles or genotypes of FOXP3 polymorphisms and ALL development risk nor clinical outcome ($p > 0.05$). TGF-B1 levels differed significantly between ALL and control groups (11.31 ng/mL \pm 1.71 vs. 24.12 ng/mL \pm 1.12; $p = 0.0007$), but not IL-10 levels (3.7 pg/mL \pm 1.0 vs. 5.4 pg/mL \pm 1.5; $p = 0.79$). Considering recurrence risk status of ALL patients, cytokine levels did not differ between high and low risk patients. FOXP3 polymorphisms were not associated with TGF-B1 plasma levels deviations between groups, but they were significantly decreased comparing genotypes between ALL and control groups. In addition, homozygosity for variant allele of rs3761548 polymorphism showed increased cytokine levels in controls, but not in ALL patients. TGF-B1 plasma levels were significantly lower in newly diagnosed patients (2.17 ng/mL \pm 1.2) than treatment (12.16 ng/mL \pm 2.5; $p < 0.001$) and complete remission (17.62 ng/mL \pm 3.1; $p < 0.0001$) groups. Conversely, IL-10 plasma levels were significantly higher in the diagnosis group (9.71 pg/mL \pm 3.7), compared to treatment (3.48 pg/mL \pm 1.3; $p = 0.01$) and complete remission (0.12 pg/mL \pm 0.1; $p = 0.0001$) groups. Whereas FOXP3 polymorphisms were not associated with susceptibility of ALL, Treg-associated cytokines IL-10 and TGF-B1 are differently present comparing ALL patients and controls. This work supports the hypothesis that the development of childhood ALL may be partially attributed to a dysregulated immune function. Understanding the pattern of immune modulation exerted by Treg-associated cytokines will provide important insight into the modulating role of the impaired immune system in ALL pathogenesis.

566. AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO PÔNDERO-ESTATURAL DE PACIENTES DE 0 A 16 ANOS COM ANEMIA FERROPRIVA ACOMPANHADOS NO AMBULATÓRIO DA UNESC

Niero CV

Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), Criciúma, SC, Brasil

Introdução: A anemia ferropriva figura entre os problemas de saúde mais comuns da infância, sendo um problema de saúde pública, uma vez que atinge em média 30% das pessoas no mundo. **Objetivos:** Conhecer o crescimento pândero-estatural de crianças com anemia ferropriva acompa-